АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XVIII. ВЫП. 5

СЕНТЯБРЬ—ОКТЯБРЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1949

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

А. Ф. Войткевич, Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников, В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ „МИКРОБИОЛОГИЯ" ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2, КОНТОРА „АКАДЕМКНИГА".

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14, Издательство Академии Наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ МИКСОБАКТЕРИЙ

А. А. Имшенецкий

Исследования в области цитологии микроорганизмов дали ряд фактов, ценных с эволюционной точки зрения. К сожалению, большинство работ, опубликованых в последние годы, носило преимущественно цитогенетический характер. Много усилий затрачивалось на бесплодные поиски хромосом у бактерий (Робиноу [4], Пешков [3]) и попытки распространить основные положения теории гена на мир микробов (Lindegren [6]). Сравнительно-морфологическое изучение микроорганизмов, клетки которых гораздо сложнее по своей структуре, чем это принято считать, велось в сравнительно небольших масштабах. Возможность применения электронного микроскопа при изучении строения бактерий вызвала большой интерес со стороны микробиологов-морфологов. Возлагались большие надежды на открытие с его помощью в клетках бактерий обособленного ядра, имеющего небольшие размеры. Однако на подавляющем большинстве снимков, различных по своему систематическому положению бактерий, изображены клетки, содержимое которых совершенно гомогенно. Лишь в очень редких случаях сморщенная плазма или различные включения без достаточных оснований описывались как ядра. Не обнаруживая при электронномикроскопических исследованиях ядра, авторы пытаются объяснить это тем, что небольшое ядро или хромосома закрыты «плазматическим щитом», который не может «пробить» электронный микроскоп. При этом забывают, что исключительно высокое содержание ядерной нуклеиновой кислоты в бактериальной клетке полностью исключает возможность существования ядра, невидимого в оптический микроскоп. Исследования, результаты которых приведены ниже, были предприняты с целью опровергнуть недоступность бактериального ядра для электронного микроскопа. Для этого были одновременно исследованы клетки миксобактерий, имеющие обособленные хроматиновые структуры, и клетки кишечной палочки, являющейся типичным представителем истинных бактерий (Eubacteriales), не имеющих ядра. Это сообщение носит предварительный характер, так как исследования в этом направлении будут продолжены.

Экспериментальная часть

Электронномикроскопическому изучению были подвергнуты клетки целлюлозной миксобактерии из рода Sorangium. Культура была выделена Прониной при исследовании разлагающейся бумажной массы, служащей для получения высоких сортов бумаги. Изолированная миксобактерия разрушала целлюлозу и была близка к Sorandium cellulosum, описанному в 1937 г. Имшенецким и Солнцевой [2], отличаясь главным образом тем, что образуемый ею пигмент был не желтого, а желто-зеленого цвета. Подробное описание морфологии и физиологии этой миксобактерии будет дано в дальнейшем Прониной. Как известно, большинство миксобактерий имеет ядра, обособленные в морфологическом отношении, и это один из признаков, отличающий их от истинных бактерий (Eubacteriales), совершенно не имеющих ни ядра, ни хромосом. Клетки данного представителя рода Sorangium содержали крупные, лег-

ко обнаруживаемые ядра. Последние хорошо окрашивались различными основными красками (фуксин, метиленовая синяя, гематоксилин и др.). Окрашивание ядер происходило в темный, насыщенный цвет, тогда как плазма окрашивалась очень бледно. Это обстоятельство следует подчеркнуть, так как истинные бактерии, независимо от того, относятся ли они к грамположительным или грамотрицательным видам, окрашиваются значительно более интенсивно, чем цитоплазма миксобактерий. Это может иметь только одно объяснение. У истинных бактерий нуклеопротеиды распределены в клетке диффузно, тогда как у миксобактерий они собраны в одном участке клетки, т. е. в ядре.

Вегетативные клетки миксобактерии, выросшей на среде Гетчинсона с сахарозой, имеют цилиндрическую, слегка изогнутую форму. Концы клеток немного заострены. В центре клетки, а иногда ближе к одному из ее концов расположено ядро. Его ширина всегда равна ширине клетки, и поэтому ядро плотно прилегает к тонкой оболочке миксобактерии (спорный вопрос о существовании оболочки у миксобактерий был решен в свое время Солнцевой [5], которая доказала, что в очень

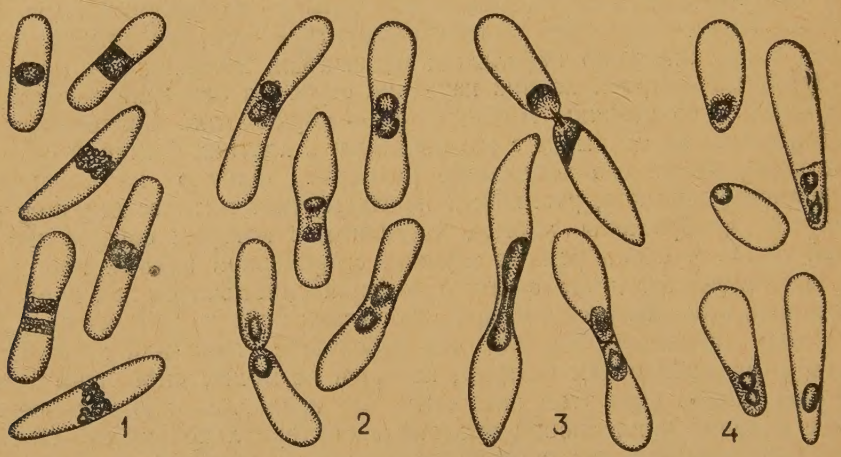

Рис. 1. *1* — вегетативные клетки Sorangium, содержащие ядра; *2* — начальные стадии деления ядра и клетки; *3* — деление клеток с помощью перетяжки; *4* — в молодых дочерних клетках ядра в узких концах

крепких растворах поваренной соли плазма у миксобактерий отходит от оболочки). Представление о морфологии окрашенных клеток Sorangium дает рис. 1, *1*. Делению клетки предшествует вытягивание ядра и сужение его в средней трети (рис. 1, *2*). Затем происходит деление клетки перетяжкой и одновременно с этим перетягивается и ядро, как это изображено на рис. 1, *3*. Две вновь образовавшиеся дочерние клетки расходятся, и в каждой из них на конце клетки имеется ядро (рис. 1, *4*). В дальнейшем ядро меняет свою локализацию в клетке и перемещается с конца клетки в ее среднюю часть. Миксобактерия увеличивается в своих размерах и снова делится. В описанных выше микроскопических картинах не было ничего принципиально нового, так как строение ядерного аппарата у различных миксобактерий было уже описано (Имшенецкий [1]).

В дальнейшем клетки Sorangium были подвергнуты электронно-микроскопическому изучению одновременно с такой типичной представительницей истинных бактерий, как кишечная палочка. Эти исследования были проведены в кабинете электронной микроскопии Академии Наук СССР. На экране электронного микроскопа, а также на полученных снимках особенности структуры клеток миксобактерий в общем оказались такими же, как и при изучении строения клеток с по-

Рис. 2. *a* — ядро в клетке Sorangium, расположенное ближе к одному из концов клетки; отчетливо видна плотная круглая кариосома; *b* — клеточное ядро, менее плотное, но занимающее почти половину клетки, в ядре крупная кариосома; *c* — ядро с очень мелкой кариосомой в центре

Рис. 3. *a* — в клетке миксобактерии ядро, имеющее вид пояска; видна кариосома, *c* — деление ядра и клетки

Рис. 4. *a* — две дочерние клетки, возникшие в результате деления материнской клетки перетяжкой, каждая клетка содержит ядро; *b* и *c* — клетки Sorangium с ядрами, имеющими кариосомы

Рис. 5. Ядра с кариосомами в клетках Sorangium

Рис. 6. Клетка Bact. coli. Ядра нет совершенно.

Рис. 7. У представителей Eubacteriales ядро отсутствует. Клетка кишечной палочки. (Все снимки сделаны при одном и том же увеличении электронного микроскопа—10 000 раз)

мощью оптического микроскопа. Однако имелись и отличия: так, ядро в фиксированных и окрашенных препаратах меньше и более округлое, чем при электронной микроскопии. В каждой клетке было отчетливо видно крупное ядро, имеющее форму пояска и занимающее иногда почти треть клетки. Ядро значительно плотнее, чем цитоплазма, и поэтому оно на снимках гораздо темнее. Существует известная закономерность между величиной ядра и его плотностью: чем оно меньше по размерам, тем оно на фотографии темнее и обратно. В этом легко убедиться, сравнив клетку *а* и *b* на рис. 2 и ядра в молодых, только что разделившихся клетках (рис. 4, *а*) с ядром в клетке, изображенной на той же фотографии (рис. 4, *в*).

Цитоплазма клеток миксобактерий совершенно гомогенна и гораздо менее плотна, чем ядро. Таким образом, электронный микроскоп в каждой клетке Sorangium обнаруживает ядро. С помощью той же методики исследовались клетки истинной бактерии Bact. coli. Препараты приготовлялись из 1—2-суточных культур, выросших на мясопептонном агаре. Существенно, что величина клеток кишечной палочки лишь немногим меньше, чем клеток Sorangium. Особенности структуры кишечной палочки, видимые на экране и на снимках, позволяют сделать два существенных вывода. Во-первых, несмотря на очень большое увеличение в клетках Bact. coli совершенно не удается обнаружить никаких ядерных структур. Содержимое клеток совершенно гомогенно (рис. 6, *7*). Во вторых, на снимках их содержимое значительно темнее (рис. 6, *7*). Это может быть объяснено только тем, что нуклеопротеиды, содержащие дезоксипептозонуклеиновую кислоту, распределены в клетке диффузно.

Таким образом, применяя один и тот же метод исследования, в клетках миксобактерий закономерно обнаруживаются ядра, тогда как в клетках кишечной палочки их нет совершенно. Есть все основания утверждать, что предположение о существовании у истинных бактерий мелких ядер, не видимых в оптический микроскоп, лишено оснований. Так же мало обоснованно утверждение, что ядро не может быть обнаружено, так как оно «прикрыто» слоем протоплазмы, не позволяющим сфотографировать ядерные структуры. Электронномикроскопическое изучение подтверждает отсутствие ядра у Eubacteriales, к которым относится подавляющее большинство бактерий. Отсутствие ядра и хромосом у бактерий имеет принципиальное значение, так как, несмотря на это, бактерии сохраняют свои свойства в многочисленных генерациях. Все содержимое бактериальной клетки является носителем наследственности, и это лишний раз доказывает необоснованность хромосомной теории наследственности.

Наблюдая за клетками Sorangium на экране электронного микроскопа, можно убедиться в том, что ядро миксобактерий неоднородно. Как правило, в каждом ядре видно шаровидное плотное образование, гораздо более темное, чем остальная масса ядра. Оно всегда правильной круглой формы и локализируется чаще в центральных, реже в периферических участках ядра. В редких случаях оно лежит в частях ядра, примыкающих к оболочке (рис. 4, *с*). Между величиной ядра и описываемого «ядрышка» нет прямой корреляции. Встречаются клетки с небольшим ядром и крупным ядрышком (рис. 2, *а*) и рядом клетки с большим ядром и очень мелким ядрышком (рис. 2, *с*, 4, *b*, 5, *b*). Вокруг плотного «ядрышка» обычно виден узкий светлый «ободок», соответствующий разряжению ядерной субстанции. Внимательно присматриваясь к снимкам клеток Sorangium, убеждаешься в том, что «ядрышко» имеется в ядре каждой клетки, но в одних случаях оно видно более, в других менее отчетливо. Такое постоянное присутствие говорит о том, что «ядрышко» не представляет собой случайно обнаруживаемую в ядре глыбку хроматина, а должно быть отнесено к

примитивным кариосомам. До настоящего времени кариосомы еще не были описаны у столь относительно примитивно организованных существ, как миксобактерии. С точки зрения сравнительной цитологии, это наблюдение не лишено интереса.

Основное преимущество исследований с помощью электронного микроскопа состоит в том, что этот метод позволяет обнаружить клеточные структуры, ранее неизвестные по той простой причине, что они были недоступны для обычных микроскопов. Микробиология уже располагает фактами, подтверждающими сказанное. Электронный микроскоп дал возможность в ряде случаев установить у некоторых микроорганизмов истинную локализацию жгутиков; позволил обнаружить спавшиеся тонкие нити актиномицетов, обычно невидимые; выяснил особенности строения капсул и т. д. В связи с этим следует указать, что описанная выше кариосома ядра клеток Sorangium также относится к образованию, лежащему на грани видимости. При ширине клеток Sorangium в 0,4—0,6 μ мелкие кариосомы занимают не более одной восьмой или одной шестой поперечника клетки. Следовательно, размер небольших кариосом колеблется в пределах от 0,05 μ до 0,1 μ. В некоторых клетках кариосомы значительно крупнее. Однако и они при обычных цитологических методах исследований, очевидно, ускользали от внимания ряда лиц, изучавших строение клеток миксобактерий.

Выводы

1. При одновременной электронной микроскопии в клетках миксобактерии Sorangium обнаруживаются ядра, тогда как клетки истинных бактерий (Bact. coli) ядер не содержат. Этим подтверждаются выводы, сделанные ранее на основании цитологических исследований, проведенных с помощью оптического микроскопа.

2. Неоднократно отмечаемое в литературе отсутствие ядер у бактерий при электронной микроскопии не может быть объяснено «недоступностью» ядер для электронного микроскопа.

3. В клеточных ядрах Sorangium с помощью электронного микроскопа можно установить присутствие кариосомы. Мелкие кариосомы по своей величине лежат на грани видимости при обычной микроскопии. Указать впервые на существование кариосом у миксобактерий стало возможным только в результате применения электронной микроскопии.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 25.IV.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Имшенецкий А. Строение бактерий, Москва, 1940.
2. Имшенецкий А. и Солнцева Л. О миксобактериях, разлагающих клетчатку. Микробиология, VI, вып. 1, стр. 3, 1937.
3. Пешков М. Полиэнергидные стадии развития бактерий в связи с изменениями их ядерного аппарата. Тр. Ин-та цитолог., гист. и эмбриол. АН СССР, *1*, вып. 2, 1948.
4. Робиноу С. В книге Дюбо Р. Бактериальная клетка. 1948.
5. Солнцева Л. Биология миксобактерий. II. Род Melittangium и род Chondromyces. Микробиология, X, вып. 5, стр. 505, 1941.
6. Lindegren C. Genetical studies of bacteria. I. The problem of the bacterial nucleus. Ctbl. Bakt., 2. Abt., 47, 1935.

О ВИДОВОМ СОСТАВЕ АКТИНОМИЦЕТОВ — ПРОДУЦЕНТОВ СТРЕПТОМИЦИНА

Н. А. Красильников

В свете того большого интереса, который вызывают актиномицеты — продуценты стрептомицина, особую значимость приобретает вопрос систематического положения и номенклатуры этих организмов.

Существующие сведения по систематике этих организмов очень ограничены и противоречивы, вызывают сомнения, а порой вводят в заблуждение специалистов, работающих в области антибиотиков.

Отмечается насущная потребность в уточнении номенклатуры и установлении точной диагностики, характеризующей систематическое положение этих организмов в системе лучистых грибков.

Как известно, актиномицеты, образующие стрептомицин, относятся к Act. griseus.

Впервые название Act. griseus было дано Краинским [1] актиномицету с серым воздушным мицелием. По данным автора, этот организм хорошо растет на многих обычных питательных средах — на сложных белковых и небелковых и на синтетических с разными источниками азотистого и углеродистого питания. Колонии бесцветные, пигмент не образуется; в старых же культурах иногда наблюдается выделение в агаризованный субстрат зеленоватого или буровато-зеленого пигмента, колонии при этом остаются неокрашенными.

Воздушный мицелий, хорошо развитый на всех синтетических и углеводсодержащих средах, слабо развивается или совсем отсутствует на белковых средах (МПА, желатина, кровяная сыворотка и др.). Окраска воздушного мицелия варьирует от светлосерой, почти белой, до темносерой или зеленовато-серой, а на белковых средах мицелий совершенно белого цвета, мучнистый или бархатистый, в виде мелкого порошка.

Строение спороносцев и способ образования спор Краинский не описал. Споры овальные и шаровидные.

По характеру и интенсивности роста на средах этот организм отнесен автором в первую группу — к макроактиномицетам, т. е. к формам, хорошо развивающимся на средах и образующим крупные колонии. Ферментативная деятельность такова: желатину разжижает умеренно, крахмал не разлагает, сахарозу не инвертирует, клетчатку разрушает слабо, гидраты восстанавливает, минеральный азот усваивает хорошо, эскулин расщепляет. Выделен из огородной почвы.

Waksman [4], дополняя Краинского, дал следующую характеристику этому виду: спороносцы спиральные, споры овальные и шаровидные, 0,8—1,5 × 0,8 μ. Воздушный мицелий меняется от светлосерого до зеленовато-серого, а на некоторых средах беловатый или красноватый; на ломтиках картофеля колонии желтоватобурые, бугристые, культура энергично разжижает желатину, молоко быстро свертывает, крахмал разлагает энергично, на клетчатке растет слабо.

Ваксман для сравнения не имел культуры Краинского. Выделенную из почвы культуру он определял по диагнозу, приведенному Краинским в его статье [1].

В 1941 г. при описании бесцветных актиномицетов с серым воздушным мицелием мы отмечали, что большинство их образуют спиральные спороносцы с овальными и шаровидными спорами [3]. Значительно реже встречаются в природе серые актиномицеты с прямыми спороносцами и цилиндрическими спорами.

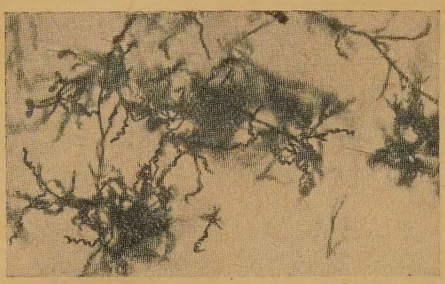

Рис. 1. Act. griseus — пятисуточная культура на синтетической среде; хорошо видны спиральные спороносцы. Увеличение 1 : 150

Первые примыкают по своим признакам ближе к культуре, описанной Краинским. Поэтому сохраняя приоритет за Краинским и учитывая дополнения Ваксмана относительно формы спороносцев, мы дали этим организмам первоначальное название, предложенное Краинским в 1914 г. Характерные морфологические и культуральные его особенности, приведенные нами в 1941 г. [3], в основном сводятся к следующему.

Спороносцы, спиральные, спирали длинные или короткие, растянутые или плотно сжатые (рис. 1); число оборотов различное, от 2—3 до 5—7 в зависимости от штамма, условий роста и состава питательной среды. Споры шаровидные и овальные, 0,8—1,0 × 0,8—0,9 μ; образуются они путем фрагментации внутри спороносных веток (рис. 2).

Рис. 2. Act. griseus. Плодоношение. *a*—спиральный спороносец, увеличение 1 : 1000; *b* — *c* — фрагментация плазмы и начало формирования спор; *d* — *f* — созревание спор внутри спороносцев; *g* — зрелые споры, увеличение 1:1200

В 1943 г. Ваксман [5], подвергая критическому пересмотру систематику лучистых грибков, предложил новую терминологию для представителей этой группы микроорганизмов. Актиномицетами — род Actinomyces — он назвал патогенные, строго анаэробные формы лучистых грибков, а стрептомицетами — род Streptomyces — назвал сапрофитные аэробные культуры лучистых грибков.

Такое подразделение побудило автора переименовать Actinomyces griseus Krainsky в Streptomyces griseus Krainsky.

Несостоятельность такого подразделения актиномицетов была нами показана в специальной статье в 1945 г. [2]. Применение термина Streptomyces для обозначения изучаемых нами организмов следует считать необоснованным. Поэтому старое название актиномицетов, предложенное Краинским, должно быть восстановлено.

В 1948 г. Waksman [6] с сотрудниками дает следующее описание актиномицета — продуцента стрептомицина: культуры бесцветные, на некоторых средах колонии с нижней стороны имеют желтоватый цвет, иногда выделяют желтоватозеленый пигмент, на картофеле некоторые штаммы образуют бурое вещество. Воздушный мицелий зеленовато-серый, серый, бледно-серый или беловато-палевый в зависимости от среды и штамма. Спороносцы прямые, короткие (рис. 3). Споры шаровидные, обильно образуются на многих средах, особенно на синтетических. Некоторые штаммы совсем не образуют спор на белковых средах. Такие штаммы легко подвергаются саморастворению.

Рис. 3. Act. globisporus streptomycini — пятисуточная культура на синтетическом агаре. Хорошо видны спороносцы в виде коротких прямых веток. Увеличение 1 : 150

Желатину все штаммы разжижают быстро, молоко пептонизируют без свертывания, разлагают крахмал, ассимилируют сахара, спирты и органические кислоты, как источники углеродистого питания, усваивают азот органический и минеральный. Антагонистические свойства проявляются не у всех штаммов. Подавляют грамположительные и грамотрицательные бактерии. Образуют стрептомицин, неомицин, гризеин и другие близкие к ним антибиотики.

По нашим исследованиям, штаммы Ваксмана никогда не образуют спиральных спороносцев; споры овальные, шаровидные, формируются фрагментацией внутри коротких прямых спороносцев, образующихся на нитях воздушного мицелия (рис. 4).

Культуры хорошо растут на обычных питательных средах — органических и синтетических. Некоторые штаммы без дополнительных веществ слабо усваивают нитратный азот, но хорошо аммонийный. Воздушный мицелий, хорошо развитый, покрывает всю поверхность колоний равномерным пушистым слоем. Окраска воздушного мицелия у штаммов, находящихся в нашем распоряжении, преимущественно белая или палевая. У некоторых из полученных нами вариантов воздушный мицелий серо-

ватого или мышиносерого цвета, бархатистый и мучнистый. По ферментативным свойствам наши штаммы не отличаются от штаммов, описанных Ваксманом [6].

Как видно из приведенных данных, штаммы — продуценты стрептомицина — резко отличаются по своим морфологическим и культуральным признакам от ранее описанных культур Act. griseus Krainsky.

Рис. 4. Act. globisporus streptomycini. Плодоношение. *a* — спороносцы на ветке мицелия, увеличение 1 : 1000; *b* — формирование спор внутри спороносцев; *c* — зрелые споры, увеличение 1 : 1700

В соответствии с правилами номенклатуры, установленными международным конгрессом ботаников (1936), штаммы — продуценты стрептомицина, описанные Ваксманом под названием Streptomyces griseus, следует отнести к другому виду.

Сопоставляя эти организмы с ранее описанными, мы находим наиболее близкое сходство их с Act. globisporus. Однако они отличаются от последних некоторыми биохимическими свойствами и в первую очередь способностью образовывать особого типа антибиотики. Эта способность у актиномицетов редко обнаруживается, в то же время она весьма характерна для целой группы антагонистов, встречающихся в природе. Она довольно четко выделяет эти организмы среди других культур актиномицетов-антагонистов, имеющих прямые спороносцы и шаровидные споры. Поэтому мы считаем целесообразным выделить культуру актиномицетов — продуцентов стрептомицина — в отдельный подвид или разновидность. Вместо прежнего названия Streptomyces griseus мы предлагаем назвать его Actinomyces globisporus streptomycini n. subsp.

Краткий диагноз Act. globisporus streptomycini

Спороносцы прямые, споры шаровидные, овальные; никогда не образуют спирально закрученных веток воздушного мицелия. Культуры хорошо растут на обычных питательных средах, усваивают минеральный азот, предпочтительнее аммонийный. Культуры бесцветные, пигментов, как правило, не образуют, но некоторые штаммы образуют бурое вещество, а иногда зеленовато-желтый пигмент, диффундирующий в субстрат.

Воздушный мицелий варьирует от белоснежного до темносерого или зеленовато-серого, в зависимости от среды и штамма. На белковых штаммах (МПА, МПЖ и др.) воздушный мицелий обычно белый, беловатый, палевый или светлосерый, на синтетических средах, на картофеле и других небелковых средах он серого цвета. Желатину разжижает энергично, молоко пептонизирует, а некоторые штаммы свертывает, нитраты восстанавливает, крахмал разлагает, на клетчатке растет слабо, у многих штаммов резко выражены антагонистические свойства по отношению к грамположительным и грамотрицательным бактериям. Штаммы образуют стрептомицин или близкие к нему антибиотики. Встречается в природе редко, обнаруживается не во всех почвах.

Выводы

1. Культуры актиномицетов, продуцирующие стрептомицин и описанные Ваксманом как Act. griseus, не соответствуют первоначальному описанию данного вида.

2. По своим морфологическим и культуральным признакам, а равно и по биохимическим свойствам описанные продуценты стрептомицина относятся к группе Act. globisporus и могут рассматриваться как разновидность, которой мы даем название Act. globisporus streptomycini.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 15.III.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Крайнский А. Die Actinomyceten und ihre Bedeutung in der Natur. Ctbl. Bakt., 41, 649, 1914.
2. Красильников Н. О классификации лучистых грибков Actinomycetales. Микробиология, XIV, вып. 3, 1945.
3. Красильников Н. Определитель лучистых грибков. Москва, 1941.
4. Waksman S. Cultural studies of species of Actinomyces. Soil Sci., 8, 7, 1919.
5. Waksman S. The nomenclature and classification of the Actinomycetes. J. Bact., 45, No. 4, 1943.
6. Waksman S., Reilly Ch. and Harris D. Streptomyces griseus (Krainsky). J. Bact., 56, 259, 1948.

ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В СЕРОВОДОРОДНОЙ ОБЛАСТИ ЧЕРНОГО МОРЯ

А. Е. Крисс и *Е. А. Рукина*

Принято делить Черное море в химическом отношении на две зоны по вертикали: окислительную, охватывающую от поверхности слой воды мощностью в 150—200 м, и восстановительную зону, примерно от верхней границы сероводорода и до дна. Названия этих зон должны выражать направление протекающих в них химических процессов. В верхней зоне реакции идут в сторону создания окисленных соединений, тогда как в нижней происходят явления восстановительного характера.

Своеобразие гидрохимии Черного моря выступает при анализе распределения целого ряда химических веществ в нижней зоне. С глубиной нарастает содержание в воде сероводорода. Увеличивается ко дну концентрация карбонатов, свободной угольной кислоты, аммиака, газообразного азота, растворенного органического вещества.

Мы уже приводили данные, рисующие ход кривой сероводорода, карбонатов, сульфатов в глубинах Черного моря [12]. Здесь нелишне будет дополнить их материалами, характеризующими с количественной стороны вертикальное распределение нитратов, аммиака, газообразного азота и растворенного органического вещества (табл. 1).

Таблица 1

Распределение нитратов, аммиака, азота и растворенного органического вещества в глубинах Черного моря

Глубина в м	Азот нитратов в мг/л*	Аммиачный азот в мг/л*	N_2 в см³/л*	Окисляемость (O_2 в мг/л**)	
	средние данные	средние данные	станция 704	станция 6	станция 8
0	0,071	0,069	12,08	1,40	2,39
100	0,084	0,078		1,40	1,79
200	0,086	0,225		2,20	
300	0,008	0,366	13,59		3,44
500	0,000	0,722	13,76	4,88	
1000	0,000	1,079		5,49	3,82
1500	0,000	1,117	13,78	5,87	3,82
2000	0,000	1,262	13,82	6,02	4,21

* Данные Севастопольской биологической станции.
** Данные Я. К. Гололобова [1].

Из табл. 1 видно, что нитраты примерно с глубины 300 м полностью исчезают. Глубже 300 м не обнаруживаются также и нитриты. Иная картина наблюдается в отношении аммиака и азота. Концентрация их с глубиной возрастает, достигая в придонных областях значительных

[1] Пользуемся случаем выразить свою глубокую благодарность Я. К. Гололобову за любезное предоставление интересующих нас данных о распределении органического вещества в водной толще Черного моря.

величин. На глубине 2000 м содержание аммиака превосходит поверхностные слои более чем в 15 раз. Что же касается газообразного азота, то он пересыщает глубинные воды. Степень пересыщения воды у дна свободным азотом достигает около 0,6 см³/л.

Характерны также данные, полученные гидрохимиком Гололобовым в экспедиции 1948 г. о содержании растворенного органического вещества в глубинах Черного моря. Они подтверждают наблюдения Лебединцева [13] о повышенных количествах органического вещества в придонных областях моря.

Эти явления, специфичные для Черного моря, вызвали у нас живейший интерес и побудили наметить программу исследований распределения с количественной стороны в водной толще и на дне моря некоторых физиологических групп микроорганизмов, участвующих в круговороте азота, а также серы. Наша программа, осуществленная в 1946 и 1948 гг., предусматривала определение количества денитрифицирующих, нитрифицирующих, тионовокислых микроорганизмов и микроорганизмов, вызывающих анаэробное разложение белков на различных горизонтах глубоководной области Черного моря и в грунтах, в участках моря, далеко расположенных от берегов. Мы стремились выяснить причины столь своеобразного распределения в Черном море целого ряда химических соединений.

В 1946 г. исследования были проведены на 5 станциях, а в 1948 г.— на 6 станциях в восточной части Черного моря. Станции располагались на значительном расстоянии от суши, в большинстве своем свыше 100—150 км от ближайшего берега. Между станциями расстояние составляло в среднем 50 км; все они приходились над максимальными глубинами — 1750, 2000 и более метров.

Пробы воды до 300 м извлекались по горизонтам 1; 25; 50; 75; 100; 125; 150; 175; 200; 225; 250; 300 м, а глубже через каждые 250 м, т. е. по горизонтам 500; 750; 1000; 1250; 1500; 1750 и 2000 м. Почти на всех станциях были добыты также колонки илов и на 3 станциях исследовались уловы планктона, полученные с помощью планктонной сети Джеди из газа № 38 из слоев воды 300—200, 200—100, 100—50, 50—25, 25—10, 10—0 м.

Все взятые пробы воды, уловов планктона и образцы илов (исследовались только поверхностные слои илов) переносились в оборудованную на судне лабораторию и тотчас же засевались на следующие среды для физиологических групп микроорганизмов.

Для денитрифицирующих микроорганизмов — на среду Гильтая (морская вода — 1000,0 см³; $Ca(NO_3)_2$ — 2,0 г; K_2HPO_4 — 2,0 г; $MgSO_4$ — 2,0 г; $CaCl_2$—0,2 г; лимоннокислый натр — 5,0 г; аспарагин — 1,0 г; полуторнохлористое железо — следы); для денитрифицирующих тионовокислых микроорганизмов — на среду Бейеринка (вода — 1000,0 см³; сера — 100,0 г; KNO_3 — 0,5 г; K_2HPO_4 — 0,2 г; Na_2CO_3 — 0,2 г: мел — 20,0 г); для нитрифицирующих микроорганизмов — на среду Виноградского (морская вода — 1000,0 см³; $(NH_4)_2SO_4$ — 2,0 г; K_2HPO_4 — 1,0 г; $FeSO_4$ — 0,4 г; мел — 10,0 г); и на морскую воду с добавлением к ней $NH_4\,MgPO_4 . 6H_2O$ в количестве 0,1 на 10 мл воды; для микроорганизмов, окисляющих аммиак в нитриты в средах с органическим веществом,— на среду Рунова (вода морская — 1000,0 см³; K_2HPO_4 — 0,5 г; $FeSO_4$ — 0,2 г; $MnSO_4$ — 0,1 г; $ZnSO_4$ — 0,1 г; молочнокислый кальций — 10,0 г; 5% $(NH_4)_2SO_4$ по 2 капли в каждую пробирку); для тионовокислых микроорганизмов — на среду Натансона (вода дестиллированная — 1000,0 см³; $Na_2S_2O_3$ — 5,0 г; NaCl — 14,5 г; $MgCl_2$ — 2,5 г; $Ca(NO_3)_2$ — 1,0 г; Na_2HPO_4 — 0,5 г; $MgCO_3$ — следы); для микроорганизмов, вызывающих анаэробное разложение белков,— на так называемую среду Баарс-альбумин (вода — 1000,0 см³; K_2HPO_4 — 0,5 г; NH_4Cl — 1,0 г; молочнокислый кальций — 3,5 г; альбумин — 26,0 г).

В поисках нитрифицирующих микроорганизмов посевы илов производились также на кремнекислый гель, пропитанный раствором $NH_4MgPO_4 \cdot 6H_2O$ с таким расчетом, чтобы получить равномерный белый налет. Илы раскладывались на поверхности этой среды множеством комочков — до 60 комочков на одну чашку Петри.

Среды Виноградского, Рунова, Натансона и морская вода с $NH_4MgPO_4 \cdot 6H_2O$ разливались в колбы или склянки тонким слоем, среда Гильтая — в пробирки, по 10 мл. Для анаэробных микроорганизмов — среды Бейеринка, Баарса с альбумином и Натансона — наливались в пробирки высоким слоем и после посева в них проб воды или ила пробирки доливались доверху соответствующей средой и затыкались резиновыми пробками.

Посевы проб воды на каждую из перечисленных сред производились в количестве 0,1 и 1,0 мл, уловов планктона — по 0,5 мл разведений этих проб 10^{-1}, 10^{-2}, а образцы илов высевались в разведениях 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}, по 1,0 мл каждого разведения. Наблюдения за посевами велись во время экспедиции, а затем в Москве. Температура инкубации посевов равнялась 25—28°. Продолжительность наблюдений составляла от 1 до 5 месяцев в зависимости от исследованных физиологических групп микроорганизмов.

О причинах накопления аммиака и азота в глубинах Черного моря

Полагают, что в Черном море имеются два источника аммиака и азота: азотсодержащие органические вещества и нитраты. Бо́льшая часть аммиака и свободного азота образовалась за счет разложения органических веществ, меньшая приходится на долю процесса восстановления нитратов. Относительно второго источника ряд исследователей, учитывая отсутствие нитратов и нитритов в глубинах Черного моря, считает, что нет особой необходимости истолковывать исчезновение нитратов и нитритов как результат жизнедеятельности микроорганизмов; наоборот, необходимо допустить восстановление нитратов в глубинах моря сероводородом. Такое мнение было высказано, несмотря на то, что уже были известны данные работы Исаченко и Ростовцева [4] и Исаченко и Егоровой, приводимые Книповичем [9], о нахождении денитрифицирующих микроорганизмов в воде и грунтах Черного моря.

Мы достаточно подробно обследовали с количественной стороны вопрос о распространении денитрификаторов в водной массе и на дне Черного моря, рассматривая его как немаловажный для освещения картины круговорота азота в этом море. Обратимся к таблицам 2 и 3, где собраны основные материалы, полученные в наших исследованиях.

Рассматривая табл. 2, легко убедиться в том, что денитрифицирующие микроорганизмы встречаются на различных горизонтах водной толщи, как в кислородной, так и в сероводородной зонах.

Количество этих организмов в воде подвержено колебаниям. Наибольшее число их было обнаружено в планктоносфере (Крисс и Рукина [11]). Нередко посев пробы из улова планктона в разведении 1 : 100 приводил к положительным результатам.

Вода с глубин, полученная с помощью батометров, содержала их в меньших количествах. Обычно требовалось внести в питательную среду не менее 1 мл воды, чтобы выявить денитрифицирующие микроорганизмы. Но и это количество не всегда оказывалось достаточным, если судить по отрицательным случаям. Ког [10], работавший параллельно с нами, засевая свои среды несколькими миллилитрами воды, имел меньше неудач, чем мы. Его данные, отмеченные звездочкой, приведены наряду с нашими, если имелись расхождения. Повидимому, заселенность водной массы денитрифицирующими микроорганизмами неравномерная, встречаются участки моря с большей или меньшей плотностью денитрификаторов.

Таблица 2

Распространение микроорганизмов, образующих аммиак и свободный азот, в водной толще Черного моря

Глубина в м	1948 г. станции 1	2	3	4 (среда Гильтая)	1948 г. станция 6 среда Гильтая	среда Бейеринка	среда Баарс-альбумин	1948 г. станция 8 среда Гильтая	среда Бейеринка	среда Баарс-альбумин	1948 г. станция 11 среда Гильтая	среда Баарс-альбумин
1	1,0	+*	1,0		0,1	1,0	—	1,0	1,0	—		—
25	1,0	—*	1,0	—	0,1	1,0	—	—	1,0	—		—
50	1,0	+*	—	1,0	1,0	1,0	—	—	—	—		—
75	1,0	+*	—	1,0	—	—	—	—	1,0	—		—
100	1,0	+*	1,0	—+*	0,1	1,0	—	1,0	—	—		—
125	1,0	+*	1,0	1,0	1,0	1,0	—	1,0	1,0	—	1,0	—
150	1,0	+*	1,0	1,0	—	1,0	—	1,0	1,0	—	1,0	—
175	1,0		—+*	—	—	1,0	—	—	1,0	—		—
200	1,0	—*	1,0	—	0,1	1,0	—	—	1,0	—	—	—
225	1,0		—	1,0	—	1,0	—	1,0	1,0	—		
250	—	—*	+	—	1,0	1,0	—	—	1,0	—	—	—
300											1,0	—
500	—		—	—	—	—	—	—	1,0	—		
750	—+*	—*	—	—	—	1,0	—	—	1,0	—		
1000	—		—	1,0	—	—	—	1,0	1,0	—		
1250	—+*	+*	1,0	—	—	—	—	—	1,0	—		
1500	—		—	1,0	—	1,0	—	—	1,0	—		
1750	—		—+*	—	—	1,0	—	—	1,0	—		
2000	—		—	—	1,0	1,0	—	—	1,0	—		

Планктоносфера

Слои в м	1948 г. станция 2 среда Гильтая	станция 7 среда Гильтая	1948 г. станция 11 среда Гильтая	среда Бейеринка	среда Баарс-альбумии
0—10	0,01	0,01	0,1	0,1	—
10—25	0,01	0,1	0,1	0,1	—
25—50	0,01	0,1	0,1	0,1	—
50—100	—	0,01	—	0,1	—
100—200	0,01	0,1	0,1	0,1	—
200—300		0,1	0,1		—

Примечание. Цифры 0,01; 0,1; 1,0 выражают объем пробы воды (в миллилитрах), в котором были обнаружены денитрифицирующие микроорганизмы; — отсутствие денитрифицирующих микроорганизмов или микроорганизмов, вызывающих анаэробное разложение белков; звездочкой отмечены данные Коппа [10], который проводил свои работы параллельно с нашими.

Обращает на себя внимание следующий факт. На среде Бейеринка с источником углерода в виде соды в анаэробных условиях обычно удавалось выявлять денитрифицирующую деятельность микроорганизмов в таких пробах воды, которые на среде Гильтая, засеянные в тех же количествах, не вызывали никакого эффекта — восстановление нитратов в ней не происходило. Особенно ярко различия на среде Бейеринка и среде Гильтая выступали при засеве проб воды с больших глубин, из серо-

Таблица 3

Количественное содержание в илах Черного моря микроорганизмов, образующих аммиак и свободный азот, и их активность

Разведения илов	Данные 1946 г.								Данные 1948 г.																			
	станция 2		станция 3		станция 4		станция 5		станция 4					станция 7					станция 8					станция 11				
	среда Гильтая	среда Баарс-альбумин	среда Гильтая	среда Баарс-альбумин	среда Гильтая	среда Баарс-альбумин	среда Гильтая	среда Баарс-альбумин	среда Гильтая	среда Бейеринка		среда Баарс-альбумин		среда Гильтая	среда Бейеринка		среда Баарс-альбумин		среда Гильтая	среда Бейеринка		среда Баарс-альбумин		среда Гильтая	среда Бейеринка		среда Баарс-альбумин	
										оп. 1	оп. 2	оп. 1	оп. 2		оп. 1	оп. 2	оп. 1	оп. 2		оп. 1	оп. 2	оп. 1	оп. 2		оп. 1	оп. 2	оп. 1	оп. 2
10^{-1}	3	4	3	7	3	7	3	7	4	34	11	18	4	4	30	11	14	16	4	29	11	13	16	4	28	11	12	4
10^{-2}	3	4	3	7	3	7	3	7	4	96	11	18	4	4	30	11	14	16	4	29	11	41	16	4	42	11	59	60
10^{-3}	3	—	3	7	3	7	3	7	4	96	11	32	16	4	30	11	42	16	4	60	11	—	60	4	42	11	15	—
10^{-4}	3	—	3	7	3	7	3	7	4	96	11	—	—	4	30	11	—	—	4	60	11	—	—	4	59	22	—	—
10^{-5}	3	—	3	60	3	7	3	7	10	—	11	—	—	4	92	97	—	16	4	60	11	—	—	4	59	22	—	—
10^{-6}	3	—	3		3		—	7	—	—	11	—	—	4	92	97	—	—	4	91	11	—	—	—	59	65	—	—
10^{-7}	3		9		9		—		—	—		—	—	4	92		—	—	4	91		—	—	—	59		—	—

Примечание. Цифры в графах указывают, на какой день была отмечена ясная реакция; — отсутствие реакции спустя 3—5 месяцев наблюдений.

водородной области моря (см. на табл. 2 станции 6 и 8, где проводились параллельные исследования, а также данные, полученные на среде Гильтая для сероводородной и кислородной зон на станциях 1, 3, 4 в 1946 г.). Мы пока можем сказать немногое о причинах этих явлений. Очевидно, что применением указанных сред нам удалось разграничить деятельность двух групп микроорганизмов: гетеротрофных и прототрофных денитрификаторов — и определить преобладание последних в водной толще Черного моря, особенно на больших глубинах.

Активность процесса восстановления нитратов и нитритов нельзя было признать высокой для большинства проб воды, если сравнивать с грунтами моря, о которых речь будет итти ниже. На средах Гильтая и Бейеринка обнаруживался аммиак, нитриты и не исчезавшие полностью, даже в течение нескольких месяцев, нитраты. Полностью закончившийся процесс денитрификации с исчезновением нитратов и нитритов мы наблюдали на среде Гильтая лишь при посеве проб воды с глубины: 1 и 25 м на 1-й станции; 1 м на 2-й станции; 1250 и 1750 м на 3-й станции; 100, 125 и 1000 м на 4-й станции; 300 м на 11-й станции, и уловов планктона из слоев воды: 0—10 м на 7-й станции, 0—10, 10—25, 25—50, 200—300 м на 11-й станции,— а на среде Бейеринка лишь при посевах проб воды с глубин 50 и 75 м и планктонных проб из слоев 0—10 м, 10—25 и 25—50 м на 11-й станции.

Что же касается микроорганизмов, вызывающих анаэробное разложение белков с образованием аммиака и свободного азота, то нам не удалось их обнаружить ни в одной пробе воды, взятой с различных глубин (табл. 2), хотя применялась среда с таким легко разрушаемым белком, как альбумин.

Совершенно иная картина представилась при анализе результатов одновременно проведенных исследований грунтов Черного моря в отношении микроорганизмов, образующих аммиак и свободный азот (табл. 3).

Число денитрифицирующих микроорганизмов в поверхностном слое дна моря огромно. Судя по данным, полученным на средах Гильтая и Бейеринка, они насчитываются миллионами и десятками миллионов на 1 г невысушенного ила. Активность их исключительна. На среде Гильтая все количество нитратов и образовавшихся из них нитритов было восстановлено до газообразного азота и аммиака в разведении ила 1 : 10 000 до 3-го дня, в разведении ила 1 : 1 000 000 на 5-й день и в разведении ила 1 : 10 000 000 на 9-й день. С меньшей скоростью, но с такой же полнотой, протекали процессы денитрификации на среде Бейеринка.

Столь резко выраженная активность денитрифицирующих микроорганизмов в грунтах Черного моря и их большая численность свидетельствуют о высокой напряженности реакций восстановления нитратов на дне моря. Очевидно, в илах Черного моря происходят процессы, приводящие к образованию нитратов и нитритов, в таких количествах, которые обусловливают уровень денитрификационных явлений, не отличающийся от того, что наблюдается в почвах.

На дне моря протекает также деятельность микроорганизмов, осуществляющих анаэробный распад белков. На среде Баарса с альбумином полное разложение белка происходило в пробирках с разведениями ила 10^{-1}, 10^{-2} и реже 10^{-3}; частичное разрушение альбумина можно было видеть и в пробирках, куда вносился ил в разведениях 10^{-4}, 10^{-5} и даже 10^{-6}. Примечательно, что в пробирках, где альбумин полностью распадался, от него, занимавшего половину объема пробирки, оставался лишь ничтожный осадок, и между пробкой и понизившимся уровнем жидкости скапливались газообразные продукты распада альбумина.

Можно считать вполне вероятным теперь, учитывая это явление, что в глубинах моря наблюдаемое пересыщение воды газообразным азотом

обусловлено не только им, но и водородом и метаном. Эти газы образуются также и как следствие анаэробного распада белковых веществ, а не только при разложении клетчатки. Поэтому сомнения Книповича [9] по поводу наличия этих газов в глубоководной области Черного моря, вызванные тем обстоятельством, что Исаченко и Егоровой удалось обнаружить целлюлозоразрушающие микроорганизмы лишь в прибрежных, мелководных районах моря,— сейчас теряют свои основания. Основным источником водорода и метана в придонных слоях Черного моря являются, повидимому, белковые вещества.

В свете проведенных исследований становятся очевидными причины, обусловившие столь своеобразное распределение аммиака, свободного азота и других газов в Черном море. Сопоставляя численность и активность микроорганизмов, вызывающих образование этих веществ в толще воды и на дне моря, нетрудно притти к заключению, что основная масса аммиака, свободного азота, метана и водорода, заполняющая глубины моря, обязана своим происхождением микробиологическим процессам, протекающим в грунтах моря. Этим, конечно, не отрицается полностью значение явления денитрификации в водной массе моря, и, более того, распространение денитрифицирующих микроорганизмов на всех горизонтах в глубоководной области моря опровергает мнение о том, что исчезновение нитратов и нитритов в сероводородной зоне обязано только действию сероводорода in statu nascendi. В этом, несомненно, принимают участие также денитрификаторы, нуждающиеся в нитратах и нитритах для своей жизнедеятельности.

Что же касается утверждений, что главным источником аммиака и свободного азота в глубинах Черного моря является органическое вещество, то наши данные не позволяют согласиться с ними. Судя по огромным количествам и высокой активности денитрифицирующих микроорганизмов на дне моря, существенную роль в накоплении указанных соединений играют наряду с процессами распада белков также процессы восстановления азотнокислых и азотистокислых солей.

Об окислительных процессах в глубоководной области Черного моря

До сих пор мы излагали содержание наших исследований тех микробиологических процессов в Черном море, которые привели к накоплению в глубинах моря сероводорода (Крисс и Рукина [12]), аммиака и свободного азота. В настоящей главе описываются опыты, казалось бы, уже с самого начала обреченные на неудачу, опыты, ставящие своей целью выяснить, не идут ли в сероводородной области Черного моря противоположные процессы с участием микроорганизмов, процессы окисления сероводорода и аммиака.

Нам известны были работы Егунова [2, 3], доказывающие существование в Черном море на глубине около 200 м бактериальной пленки, окисляющей сероводород, подымающийся с глубин, и наблюдения Равич-Щербо [16] над образованием пленки в аквариуме Севастопольской биологической станции, укрепляющие гипотезу Егунова, с одной стороны, и с другой — отрицательные результаты, полученные Исаченко и Егоровой [7] при попытке найти эту бактериальную пленку в Черном море.

Нам известно было также сообщение Исаченко и Салимовской [6] об окислителях сернистых соединений — тионовых микроорганизмах, которые они нашли в грунтах мелководной зоны Черного моря и в илах Азовского моря, но не смогли обнаружить в пробах воды.

Поэтому мы с большим интересом следили за процессами, протекающими в склянках со средой Натансона и пробирках со средой Бейеринка, куда вносились пробы воды с различных глубин Черного моря и последовательные разведения илов.

Таблица 4

Распространение в водной толще Черного моря микроорганизмов, окисляющих соединения серы и аммиака

Глубина в м	Данные 1946 г.					Данные 1948 г.										
	станции					станция 2		станция 4		станция 6			станция 8			станция 11	
	1	2	3	4	5	тионовые	нитрифицирующие	тионовые	нитрифицирующие	тионовые		нитрифицирующие	тионовые		нитрифицирующие	тионовые	нитрифицирующие
	тионовые					среда Натансона		среда Натансона		среда Натансона	среда Бейеринка		среда Натансона	среда Бейеринка		среда Натансона	
1	—*	—*				—	—	1,0	—	—	—	—	1,0	—	—	1,0	—
25	—*	—*				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
50						—	—	—	—	—	—	—	1,0	—	—	—	—
75		—*				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
100		—*	—*	—*		1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,0	—
125		—*		+*		—	—	1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
140		—*		+*												1,0	—
150				—*		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
160				+*												1,0	—
175			—*	—*	—*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
200		—*	—*		—*	1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
225			+*			—	—	—	—	1,0	—	—	—	—	—	—	—
250			—*			—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
300						—	—									—	—
500								—	—	—	—	—	—	—	—		
750										—	—	—	—	—	—		
1000								1,0	—	1,0	—	—	1,0	—	—		
1250					—*			—	—	—	—	—	—	—	—		
1500								—	—	—	—	—	—	—	—		
1750								—	—	—	—	—	—	—	—		
2000										—	—	—	1,0	—	—		

Планктоносфера							
Слои в м	станция 2		станция 7		станция 11		
	тионовые	нитрифицирующие	тионовые	нитрифицирующие	тионовые		нитрифицирующие
	среда Натансона		среда Натансона		среда Бейеринка	среда Натансона	
0—10	0,1	—	0,1	—	—	0,1	—
10—25	—	—	0,1	—	—	0,1	—
25—50	—	—	0,1	—	—	—	—
50—100	0,1	—	—	—	—	0,1	—
100—200	—	—	0,1	—	—	0,1	—
200—300			0,1	—	—	0,1	—

Примечание. Цифры 0,1; 1,0 выражают объем пробы воды (в миллилитрах) в котором были обнаружены тионовые микроорганизмы; — отсутствие тионовых и нитрифицирующих микроорганизмов; отрицательный результат для нитрифицирующих микроорганизмов относится ко всем трем средам: Виноградского, Рунова и морской воде с добавлением $NH_4MgPO_4 \cdot 6H_2O$; звездочкой отмечены данные Коппа [10]; ——— верхняя граница сероводорода.

Таблица 4 дает представление о распространении тионовых микроорганизмов в водной массе Черного моря. В ней приведены также данные Коппа [10], который занимался поисками пленки Егунова.

Легко судить, прежде всего, на основании огромного числа анализов, что вблизи верхней границы сероводорода нет никаких скоплений, пластинки или пленки из микроорганизмов, окисляющих сероводород. Если на станции 4 1946 г. места находок тионовых микроорганизмов располагались довольно близко у пограничного слоя воды, зараженного сероводородом, то на всех остальных станциях не удалось наблюдать подобной картины: тионовые микроорганизмы не обнаруживались ни на среде Натансона, ни на среде Бейеринка.

С бо́льшим или меньшим постоянством тионовые микроорганизмы встречались в планктоносфере. Во всех положительных случаях достаточно было посеять 0,1 мл из улова планктона, чтобы выделить эти микробные формы. Остальные пробы воды, взятые на различных глубинах моря, очень редко содержали тионовые микроорганизмы. Из общего числа 99 проб — 80 дали отрицательный результат.

Обращает на себя внимание тот факт, что микроорганизмы, окисляющие в среде Натансона соединения серы, выявлены не только в кислородной зоне, но и в сероводородной зоне на глубинах 1000 и 2000 м. Возможно, это формы, опускающиеся на дно из верхних слоев или увлеченные на глубины массами воды на периферии кольцевых течений (Водяницкий [1]). Интересно также, что посевы воды поверхностных и глубинных проб на двух станциях на среду Бейеринка оказались безрезультатными: сульфаты не обнаруживались в тех пробирках, где происходило восстановление нитратов до нитритов. Связано ли это явление с тем, что в таких пробирках образовывались иные окисленные соединения серы или в них вовсе не происходило окисление серы,— мы пока сказать не можем. Коппу удалось в отдельных водных пробах выявить денитрификаторов, окисляющих серу до сульфатов при засеве нескольких миллилитров воды.

Отсутствие признаков пластинки Егунова, преимущественное распространение аэробных тионовых микроорганизмов в кислородной зоне, лишь отдельные находки их в сероводородной области — все это в какой-то мере можно было ожидать. Но совершенно неожиданные и поразительные явления открылись при исследовании поверхностных слоев грунта Черного моря на глубинах более 2000 м в сероводородной зоне. Они оказались населенными огромным количеством тионовых микроорганизмов, причем не только денитрификаторов, но и использующих свободный кислород для окисления соединений серы (табл. 5).

В 1946 г. мы, рассчитывая лишь на случайные находки тионовых микроорганизмов на дне моря, ограничились разведениями проб илов до 10^{-4} на среде Натансона, разлитой тонким слоем (1—1,5 см) в склянки и... получили развитие тионовых, окисляющих гипосульфит в сульфаты, почти во всех склянках, кроме склянки с разведением 10^{-4} ила со станции № 4. В контрольных склянках, выдерживавшихся в одинаковых условиях с опытными, образование сульфатов не происходило.

В 1948 году стало совершенно очевидным, что числа тионовых микроорганизмов в грунтах Черного моря на глубине более 2000 м могут достигать десятков миллионов на 1 г невысушенного ила. Такие количества были обнаружены в первом и втором опытах на станциях 7 и 8. Несколько меньше их оказалось в пробах на станциях 11 и 4 (10^6), причем разница между первым опытом с илом 4-й станции, где тионовые микроорганизмы были найдены в разведении 10^{-2}, и вторым опытом с тем же илом, когда титр их составил 10^6, убеждает нас в том, что наибольшее количество тионовых микроорганизмов сосредоточено в очень тонком поверхностном слое грунта.

Скорость образования сульфатов тионовыми микроорганизмами в аэробных условиях высока. Ясная реакция в разведениях илов 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} чаще всего появлялась на 10—22-й день, в разведениях 10^{-6}, 10^{-7} — на 22-й, 50-й и 102-й день.

Являются ли тионовые микроорганизмы со дна Черного моря, осуществляющие процессы окисления соединений серы в аэробных условиях наших опытов, строгими аэробами? На этот вопрос в полной мере ответят намечаемые в ближайшем будущем исследования. Пока же, анализируя опыты с посевами тех же проб ила на среды Натансона и Бейеринка, налитых в пробирки под пробку, т. е. опыты, в которых донаторами кислорода служили нитраты этих сред, легко притти к заключению, что, повидимому, большинство выделенных нами микробных форм, окисляющих серу и ее соединения, являются факультативными анаэробами. Титры микроорганизмов, окисляющих гипосульфит и серу до сульфатов за счет нитратов на средах Натансона и Бейеринка в отсутствие свободного кислорода, почти не отличались от титров на среде Натансона, разлитой тонким слоем,— они равнялись 10^5, 10^6. Скорость появления сульфатов на среде Натансона в анаэробных условиях мало отличалась от скорости наступления реакции на среде Натансона в аэробных условиях, но в среде Бейеринка реакция проявлялась значительно позднее — на 65 и 97-й день.

В свете установленных фактов следует признать, что на дне на больших глубинах в сероводородной области Черного моря энергично протекают процессы окисления сероводорода и других соединений серы. Эти процессы, осуществляемые тионовыми микроорганизмами, населяющими поверхность грунтов моря в огромной массе, и, возможно, и другими мало еще известными физиологическими группами микробов, должны влиять в какой-то мере на количественное содержание сероводорода в морской воде придонных слоев. И не исключается предположение, что наблюдающееся ко дну некоторое снижение концентрации H_2S обусловлено окислительной деятельностью микроорганизмов, понижающих общий выход сероводорода, образующегося как результат восстановления сульфатов и разложения белков.

Но возникает вопрос, за счет каких источников кислорода происходят на дне моря окислительные процессы? В первую очередь ответом являлась мысль об использовании микроорганизмами азотнокислых и азотистокислых солей в качестве донаторов кислорода. Нам казалось возможным сделать такое допущение, несмотря на то, что, по данным гидрохимии Черного моря, нитраты и нитриты отсутствовали в воде сероводородной зоны. И если бы даже химические анализы илов не обнаружили этих соединений, все же казалось не невероятным, что соли азотной и азотистой кислот образуются на дне Черного моря и становятся тотчас же in statu nascendi достоянием тех физиологических групп микроорганизмов, которые используют их как источники кислорода или азота.

В пользу такого предположения говорило одно весьма веское обстоятельство: огромное количество и высокая активность денитрифицирующих микроорганизмов в грунтах Черного моря. Мы могли рассматривать скопления этих микроорганизмов на дне моря, с большой энергией восстанавливающих нитраты и нитриты, как выражение обилия необходимого для их жизнедеятельности пищевого материала в местах обитания. И если с большой натяжкой можно было еще рассуждать о том, что микроорганизмы, выявленные на среде Гильтая, суть формы, развивающиеся за счет органического вещества на дне моря, но обладающие также способностью восстанавливать нитраты (и этот второй признак не говорит о том, что им приходится активно пользоваться данной функцией в илах Черного моря), то наличие в большой массе денитрификаторов, окисляющих серу и ее соединения за счет кислорода нитратов и нитритов, укрепляло высказанную мысль о значении обнаруженных био-

Таблица 5

Количественное содержание в грунтах Черного моря тионовокислых микроорганизмов и их активность

Разведения илов	Данные 1946 г.							Данные 1948 г.											
	станция 2	станция 3		станция 4		станция 5		станция 4			станция 7			станция 8			станция 11		
	среда Натансона	среда Натансона		среда Натансона		среда Натансона		среда Натансона		среда Бейеринка	среда Натансона		среда Бейеринка	среда Натансона		среда Бейеринка	среда Натансона		среда Бейеринка
	аэробы	аэробы	анаэробы	аэробы	анаэробы	аэробы	анаэробы	аэробы			аэробы			аэробы			аэробы		
								оп. 1	оп. 2		оп. 1	оп. 2		оп. 1	оп. 2		оп. 1	оп. 2	
10^{-1}	20	10	10	20	6	10	6	44	11	22	31	11	65	30	11	22	29	22	65
10^{-2}	20	10	21	20	21	10	21	44	22	22	31	22	65	101	22	22	38	22	97
10^{-3}	20	10	21	20	21	10	21	—	22	22	102	22	65	101	22	22	100	22	97
10^{-4}	20	20	31	—	21	20	21	—	22	22	102	22	65	39	22	22	—	22	97
10^{-5}			31		31		31	—	22	22	102	22	97	—	22	22	—	22	97
10^{-6}								—	50	22	—	22	97	101	22	22	100	50	97
10^{-7}								—	—		102	50		101	22		—	—	

Таблица 6

Количественное содержание в грунтах Черного моря микроорганизмов, окисляющих аммиак, и их активность

Разведения илов	Данные 1946 г.				Данные 1948 г.																			
	среда Виноградского				станция 4						станция 7						станция 8						станция 11					
	станции				среда Виноградского			Гель	среда Рунова		среда Виноградского			Гель	среда Рунова		среда Виноградского			Гель	среда Рунова		среда Виноградского			Гель	среда Рунова	
	2	3	4	5	оп. 1	оп. 2	оп. 3		оп. 1	оп. 2	оп. 1	оп. 2	оп. 3		оп. 1	оп. 2	оп. 1	оп. 2	оп. 3		оп. 1	оп. 2	п. 1	оп. 2	оп. 3		оп. 1	оп. 2
10^{-1}	—	—	—	—	—	51	—		—	51	—	51	—		—	—	—	51	—		—	—	—	51	—		—	—
10^{-2}	—	—	—	—	—	51	—		—	—	—	51	—		—	—	—	51	—		—	—	—	51	—		—	—
10^{-3}	—	—	—	—	—	51	—		—	—	—	51	—		—	—	—	51	—		—	—	—	51	—		—	—
10^{-4}	—	—	—	—			—		—	—			—		—	—			—		—	—			—		—	—
10^{-5}							—		—	—			—		—	—			—		—	—			—		—	—
10^{-6}							—		—	—			—		—	—			—		—	—			—		—	—
10^{-7}							—		—	—			—		—	—			—		—	—			—		—	—
Комочки ила								30						18						—								

Примечание к табл. 5 и 6. Цифры в графах указывают, на какой день была отмечена ясная реакция; — отсутствие реакции спустя 3—5 месяцев наблюдений.

логических явлений как индикаторов процессов образования окисленных соединений азота на дне Черного моря.

Однако мы не довольствовались этими косвенными доказательствами, хотя были в значительной мере уверены, что в данных условиях процессы денитрификации находятся в функциональной зависимости с количественной стороны от процессов нитрификации. Наше внимание было устремлено на поиски микроорганизмов, окисляющих аммиак, для увеличения доказательной силы складывающихся представлений. Естественно, что нахождение в грунтах сероводородной области Черного моря нитрификаторов в количествах, свидетельствующих об их размножении в окружающей экологической обстановке, позволило бы утверждать, что на дне моря протекают с той или иной интенсивностью процессы нитрификации, даже если бы химикам и не удалось уловить продукты реакций окисления аммиака вследствие быстроты использования их другими микроорганизмами.

Исследования 1946 г. закончились полным разочарованием. Посевы проб ила, взятых на 4 станциях, на среду Виноградского не привели к положительным результатам: нитриты в среде не обнаруживались, несмотря на длительный срок наблюдений (табл. 6).

В 1948 г. исследования были возобновлены. На этот раз они не ограничивались поисками только нитрификаторов Виноградского, которых Исаченко [5] находил в мелководных областях Черного моря, но и микроорганизмов, окисляющих аммиак в присутствии органического вещества, описанных Мишустиным [14], Руновым [17], Нечаевой [15], Калиненко [8] и рядом других исследователей. Все большое число водных проб, полученных с различных горизонтов, и пробы илов высевались на среды Виноградского и Рунова. К водным пробам в количестве 10—15 мл добавлялась также двойная соль $NH_4MgPO_4 . 6H_2O$ в надежде вызвать в такой среде процесс нитрификации.

Из табл. 4 видно, что ни в одной из 93 проб воды, взятых в планктоносфере и на различных глубинах в кислородной и сероводородной зонах, не удалось выявить нитриты и нитраты в течение 3 месяцев на примененных трех средах.

Но в опытах с грунтами открылась иная картина (табл. 6). Первый опыт был отрицательным с илами со всех станций. Во втором опыте процесс нитрификации наблюдался: на 51-й день во всех опытных склянках обнаруживались с различной интенсивностью реакции нитриты. К сожалению, посевы на среду Виноградского были сделаны только из разведений илов 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, и поэтому нельзя судить о титре нитрификаторов в этих пробах илов; во всяком случае количество их не меньше чем 1000 в 1 г ила. Третий опыт, как и первый, оказался неудачным: процесс нитрификации не был уловлен.

На твердой среде — кремнекислом геле с двойной солью $NH_4MgPO_4 . 6H_2O$ — ясная реакция наступила на 18-й день в опыте с илом с 8-й станции и на 30-й день с илом, взятым на 4-й станции. Нитриты обнаруживались почти под всеми разложенными на поверхности геля комочками ила с этих станций, тогда как илы с других станций — 7 и 11 — не вызывали процесса нитрификации.

Развитие микроорганизмов, окисляющих аммиак в нитриты в присутствии органического вещества, наблюдалось лишь в одном случае: в разведении ила с 4-й станции 10^{-1} во втором опыте. Вообще же, сопоставляя данные, полученные на среде Виноградского и на среде Рунова, особенно во втором опыте с илами, убеждаешься в том, что представления Калиненко [8] о возбудителях нитрификационного процесса основаны на недостаточном фактическом материале.

Анализ результатов проведенных опытов по нитрификации привел нас к заключению, что нитрификаторы встречаются на дне моря и в

большом количестве. Они сосредоточены, повидимому, в поверхностных слоях ила, но не всегда обнаруживаются, на наш взгляд, по двум причинам: первая — неполноценность предложенных сред для выявления морских форм нитрификаторов, вторая — маскирующее действие денитрификаторов, уничтожающих продукты реакции нитрификации. Мы вернемся в дальнейшем к этим вопросам и более подробно опишем наши наблюдения, основанные на изложенных и новых исследованиях.

Откуда же черпают нитрификаторы на дне сероводородной области Черного моря необходимый им кислород? Здесь следует вспомнить мнение, что при низких значениях окислительно-восстановительного потенциала возможно использование микроорганизмами кислорода углекислоты.

Это один из предполагаемых источников. О втором заставляют подумать следующие опыты. Нами засевались последовательными разведениями илов со станций 3, 4, 5 1946 г. пробирки со средой Виноградского. После засева пробирки доливались под пробку той же средой, и в таких анаэробных условиях посевы выдерживались длительный срок. Через 2—3 недели можно было заметить образование черного осадка в разведениях ила: 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} с 3-й станции, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} с 4-й станции и 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} с 5-й станции.

Как же был использован кислород сульфатов в среде Виноградского, например, в крайних разведениях илов, где органического вещества, вносимого с навеской ила, уже не могло быть? На сжигание органического вещества, сопутствующего в качестве примесей к солям и дестиллированной воде, взятым для приготовления среды Виноградского? Но эти следы органического вещества вряд ли могли вызвать образование столь значительного осадка сернистого железа, какой наблюдался в этих опытах. Ведь углерод органического вещества выступает не как катализатор, а непосредственно участвует как реагент в реакции восстановления сульфатов.

Не происходило ли в этих опытах окисление аммиака за счет кислорода сульфатов, по аналогии с процессом окисления серы за счет кислорода нитратов, вызываемым микроорганизмами? — такой вопрос возник перед нами. И хотя нитриты в этих опытах не были обнаружены, мы не исключаем такое предположение, так как учитываем возможность исчезновения нитритов in statu nascendi под действием денитрификаторов, встречающихся на дне моря в большом количестве и с высокой активностью. Наши исследования в этой области продолжаются.

Обнаружение нитрификаторов в больших количествах на дне Черного моря свидетельствует об энергично протекающих процессах окисления аммиака в придонных слоях воды, что необходимо учитывать при оценке активности восстановительных реакций по количеству образующихся продуктов восстановления в процессах круговорота азота в Черном море.

Выводы

Значение проведенных исследований заключается в том, что удалось выявить на дне в сероводородной области Черного моря на глубинах, превышающих 2000 м, взаимопротивоположные процессы образования восстановленных и окисленных соединений азота и серы и охарактеризовать эти процессы с количественной стороны. Стали очевидными не только причины накопления в глубинах Черного моря сероводорода, аммиака, свободного азота и, добавим, водорода, метана и углекислоты, а следовательно, столь своеобразного распределения их по вертикали в водной толще, но и реакции окисления этих веществ как источники энергии для ряда физиологических групп микроорганизмов.

Благодаря сравнительной микробиологической характеристике водной толщи и грунта Черного моря выступила отчетливо роль биохимических

процессов на дне моря. Огромные массы в илах микроорганизмов, участвующих в круговороте азота, серы, углерода, и их высокая активность позволяют заключить, что дно Черного моря является своеобразной гигантской биохимической лабораторией, определяющей современный гидрохимический режим этого бассейна.

Хотя результирующая микробиологических процессов на дне Черного моря обусловливает накопление восстановленных продуктов, несомненно также, что они, как и органическое вещество, интенсивно используются микроорганизмами в качестве энергетических ресурсов. Образование окисленных соединений происходит не только в поверхностных слоях, но и в глубинах Черного моря, и, с другой стороны, даже у самой поверхности моря можно наблюдать энергично протекающие процессы десульфуризации и денитрификации с конечными продуктами в виде сероводорода, аммиака и свободного азота. Позволительно поэтому усомниться в целесообразности сохранения названий, данных для двух зон Черного моря,— окислительная и восстановительная зоны. Они не отвечают протекающим в этих зонах явлениям, их многостороннему характеру. Более соответствующими названиями, на наш взгляд, служили бы: кислородная и сероводородная зоны или области Черного моря.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва
Севастопольская биологическая станция
Академии Наук СССР
Всесоюзный научно-исследовательский институт
морского рыбного хозяйства и океанографии
Москва

Получено 16.III.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Водяницкий В. Основной водообмен и история формирования солености Черного моря. Тр. Севаст. биол. ст., 6, 386, 1948.
2. Егунов М. Серобактерии одесских лиманов. Архив биол. наук, 3, 1895.
3. Егунов М. Диффузия некоторых газов и солей. Применение к биологии и технике. Изв. Одесского с.-х. ин-та, вып. 1, стр. 81, 1925—1926.
4. Исаченко Б. и Ростовцев С. Денитрифицирующие бактерии из Черного моря. Изв. Ботан. сада, № 3, 91, 1911.
5. Исаченко Б. Sur la nitrification dans les mers. C. R., 182, 185, 1926.
6. Исаченко Б. и Салимовская А. К морфологии и физиологии тионовокислых бактерий. Изв. Гидрол. ин-та, вып. 21, 61, 1928.
7. Исаченко Б. и Егорова А. О бактериальной пластинке в Черном море. Сб., посв. Н. М. Книповичу, стр. 47, 1939.
8. Калиненко В. Гетеротрофные бактерии в роли нитрификаторов. Почвоведение, № 6, 357, 1948.
9. Книпович Н. Гидрологические исследования в Черном море. Тр. Азовско-Черноморской научно-промысловой эксп., вып. 10, 1932.
10. Коппп Ф. К микробиологии Черного моря. Тр. Севаст. биол. ст., 6, 298, 1948.
11. Крисс А. и Рукина Е. Микробиология Черного моря. Распространение микроорганизмов в водной толще Черного моря. Микробиология, XVIII, 141, 1949.
12. Крисс А. и Рукина Е. О происхождении сероводорода в Черном море. Микробиология, XVIII, 333, 1949.
13. Лебединцев А. Предварительный отчет о химическом исследовании Черного и Азовского морей летом 1891 г. Зап. Новороссийск. общ-ва естествоиспыт., XVI, 165, 1892.
14. Мишустин Е. К вопросу об образовании нитритов метатрофными бактериями. Вестн. бактериолого-агроном. станции, № 24, 200, 1926; № 25, 28, 1928.
15. Нечаева Н. Микобактерия, окисляющая аммиак в нитриты. Микробиология, XVI, 418, 1947.
16. Равич-Щербо Ю. К вопросу о бактериальной пленке в Черном море по гипотезе проф. Егунова. Тр. Севаст. биол. ст., 2, 127, 1930.
17. Рунов Е. О возможности образования нитритов биологическим путем из аммиака и органических веществ без участия Nitrosomonas. Вестник бактериолого-агроном. станции, № 24, 189, 1926; № 25, 40, 1928.

СТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ПЕНИЦИЛЛИУМА НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ КУЛЬТУРОЙ BACILLUS SUBTILIS

М. О. Стрешинский

Исследование взаимоотношений между Penicillium notatum и выделенной из почвы культурой Bacillus subtilis (Стрешинский [7]) показало, что в смешанных культурах обе эти формы способны оказывать взаимное антагонистическое действие друг на друга. В зависимости от конкретно сложившихся условий в каждом отдельном случае борьба между этими двумя видами микроорганизмов приводит к вытеснению одного из них из окружающей среды.

В смешанных культурах этих двух форм в жидких питательных средах наступает либо полное растворение бактериальных клеток грибом, либо подавление развития гриба бактериями. На агаризованных питательных средах и в почве бактерии способны вызвать литический распад мицелия пенициллиума. Клетки данной культуры Bacillus subtilis, внесенные в простерилизованную почву, на два-три дня раньше, чем конидии пенициллиума, исключают возможность развития гриба в этой среде.

Взаимоотношения между этими двумя видами микроорганизмов не имеют характера паразитизма. Ни одна из этих форм не способна развиваться только за счет своего конкурента. Антагонизм между ними в смешанных культурах наблюдается лишь при условиях, допускающих нормальное развитие каждой из этих форм в чистой культуре.

Как осуществляется антагонистическое действие одного вида на другой в смешанной культуре этих двух форм?

Растворяющее действие гриба на бактериальные клетки находит свое объяснение в способности Pen. notatum выделять пенициллин.

Хотя имеющиеся данные не дают основания утверждать, что пенициллин является единственным фактором, при помощи которого гриб подавляет развитие бактерий и вытесняет их из окружающей среды, однако роль его в этом процессе хорошо видна из следующих наблюдений.

Все культуры грибов рода пенициллиум, для которых была доказана способность выделять в окружающую среду антибиотические вещества, были также способны оказывать описанное нами растворяющее действие на бактерии (Стрешинский [7]). Кроме Pen. notatum нами были испытаны две активные культуры Pen. chrysogenum, одна культура Pen. crustosum, одна активная культура пенициллиума, выделенная из лесной почвы, вид которой не определен. Во всех этих случаях взаимоотношения между грибом и бактериями были одного порядка. При этом выявилось, что интенсивность процесса растворения бактерий данной культурой пенициллa находится в прямой зависимости от интенсивности выделения ею антибиотических веществ в чистой культуре.

Из всех испытанных нами культур пенициллов наиболее активной формой в смысле выделения пенциллина была культура Pen. chrysogenum *Q*-176. Конидии *Q*-176, развивавшиеся в висячих каплях МПБ, предварительно засеянного Bac. subtilis, вызывали полное растворение бактерий в каплях через 30—35 часов после начала опыта. В тех же условиях и при том же количественном соотношении клеток бактерий и конидий гриба в каплях Pen. notatum требовал для этого до трех суток. Культуры пенциллов, не выделяющих антибиотических веществ, в тех

же условиях опыта не были в состоянии подавить развитие бактерий в окружающей среде.

Еще более ощутима устойчивость наиболее активной культуры Pen. chrysogenum Q-176 к антагонистическому действию бактерий при посеве их в смеси на твердую среду. Способность бактерий при совместном росте с грибом на твердых средах лизировать мицелий последнего ни разу не наблюдалась нами в отношении культуры Q-176, даже при самых, казалось бы, благоприятных для бактерий условиях. Во всех случаях посева взвеси конидий пенициллa Q-176 с бактериями на твердые среды гриб развивался так же хорошо, как и в контроле, где бактерии отсутствовали.

С другой стороны, наблюдавшийся нами процесс растворения бактериальных клеток под влиянием живого мицелия гриба легко может быть воспроизведен растворами очищенного пенициллина.

Сказанное дает, таким образом, основание притти к выводу, что пенициллин является если не единственным, то во всяком случае главным фактором, при помощи которого гриб вытесняет своего конкурента из смешанной культуры.

Но каковы пути осуществления антагонистического действия бактерий на гриб? Какие приспособления имеются у данной бактериальной формы, клетки которой чувствительны к относительно невысоким концентрациями пенициллина, к преодолению, при определенных условиях опыта, губительного действия антибиотика?

Обычно применяемая методика определения способности какой-либо культуры микроорганизмов к выделению биологически активных веществ, испытанная по отношению к данной культуре Bac. subtilis, давала всегда отрицательные результаты.

На агаризованную питательную среду наносилась петлей капля взвеси бактерий в воде. Через разное время от начала опыта, от 24 до 120 часов, у выросших бактериальных колоний петлей наносились радиальные штрихи взвеси конидий разных штаммов пенициллa. Во всех случаях рост гриба был равномерным по всей длине штриха, без всяких признаков угнетения со стороны бактериальной колонии. При этом неактивные культуры гриба дорастали вплотную до бактериальной колонии, активные культуры врастали в нее своими гифами и вскоре полностью заволакивали ее растущим мицелием.

В другом случае 18 эрленмейеровских колб со 100 см^3 жидкой питательной среды в каждой были заражены бактериями и разделены на три серии по 6 колб в каждой. Первая серия колб выдерживалась в термостате при 37°, вторая — при 24°, третья — оставалась в лаборатории при температуре 15—18°. Начиная со вторых суток, ежедневно бактериальная культура одной из колб каждой серии подвергалась фильтрованию через свечи Шамберлена. Полученный фильтрат от каждой колбы отдельно разделялся на две части. В одну часть добавлялся стерильный агар, предварительно расплавленный в небольшом количестве бульона, а среда разливалась на чашки, вторая часть оставалась жидкой. Агаризованный и жидкий фильтрат засевались конидиями пенициллa. Развитие конидий пенициллa в жидком фильтрате изучалось также и в висячих каплях. Опыт повторен нами троекратно. Во всех случаях, без исключения, рост гриба на жидком и агаризованном фильтрате бактериальной культуры от 24- до 150-часового возраста не имел заметных отличий от роста гриба на свежей питательной среде.

Мы проводили также стерилизацию бактериальной культуры высокой температурой, и в этих случаях гриб при последующем засеве в эту среду не угнетался в своем развитии.

Точно так же бактериальные клетки, смытые с культуры на агаре и убитые нагреванием, внесенные в свежую питательную среду, не оказывали антагонистического действия на растущий гриб. Приведенные

данные показывают, что в фильтратах бактериальных культур разного возраста нельзя установить наличие биологически активных веществ, способных подавлять развитие пенициллa. Эти вещества также не появляются в среде при процессах распада убитых бактериальных клеток.

Наблюдавшееся нами антагонистическое действие бактерий на пенициллин в смешанных культурах нельзя также объяснить поглощением бактериальными клетками питательных веществ из окружающей среды или изменением физико-химических свойств ее. В противном случае этими неблагоприятными для гриба свойствами должны были обладать и фильтраты бактериальных культур.

Нормальное развитие пенициллa в фильтратах бактериальных культур и в бактериальных культурах, стерилизованных высокой температурой, доказывает, что даже после шестисуточного роста бактерий в этой среде в ней остается достаточно питательных веществ для развития грибного мицелия.

Был подвергнут исследованию характер развития мицелия Pen. notatum в условиях крайнего голодания. Наблюдения за прорастанием конидий в висячих каплях дестиллированной воды показали, что запасы питательных веществ, имеющиеся в самой конидии, достаточны для образования небольшого мицелия, который, как правило, всегда переходит к конидиеношению, образуя небольшие цепочки с 5—6 конидиями меньших размеров (рис. 1). Угнетающее же действие бактерий на гриб сказывается наряду с другими изменениями в выпадении процесса образования репродуктивных клеток.

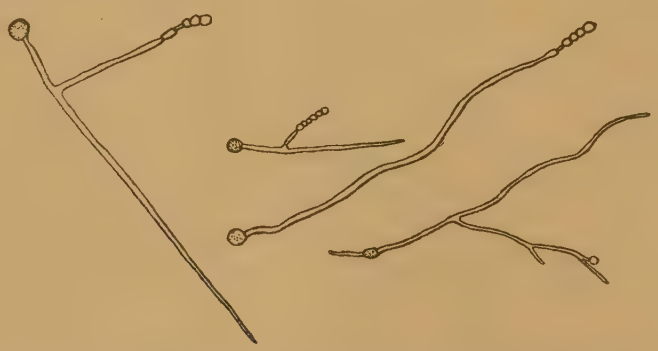

Рис. 1. Проростки Pen. notatum, образовавшие конидии в висячих каплях дестиллированной воды

Наконец, рост и развитие грибного мицелия в среде с бактериями идет тем лучше, чем больше конидий гриба было внесено в данный объем среды. В случае, если бы фактором, лимитирующим развитие гриба, был недостаток питательных веществ, указанная выше закономерность должна была бы носить обратный характер.

В микробиологической литературе неоднократно обсуждался вопрос о возможности действия микроорганизмов друг на друга на расстоянии при помощи выделения газообразных продуктов или лучистой энергии типа митогенетических лучей (Перетц и Мостова [4, 5, 6]). Казалось целесообразным проверить, не могут ли подобные явления быть причиной антагонистического действия данного штамма бактерий на пенициллин. Методика этой работы заключалась в следующем: на дно луночки предметного стекла наносилась плоская капля жидкой питательной среды с бактериями. Параллельно приготовлялась взвесь конидий гриба в питательной среде, капля которой наносилась на покровное стекло. Покровное стекло с каплей накладывалось над луночной предметного стекла и края его заливались воском. Однако во всех случаях, где не было пря-

мого контакта между обеими каплями и культуры гриба и бактерий развивались изолированно, хотя и в очень ограниченном объеме, нельзя было установить какое-либо угнетающее действие одного вида на другой.

Таким образом, антагонистическое действие данной культуры бактерий на пенициллиум относится к той форме проявления антагонизма между микроорганизмами, которая наблюдается только в смешанных культурах при непосредственном контакте между живыми клетками обеих форм.

Подобная форма проявления антагонистических взаимоотношений между микроорганизмами неоднократно отмечалась в литературе.

Так, например, Нахимовская [3] указывает, что из 47 выделенных ею культур актиномицетов часть культур была способна вызывать угнетение бактерий только в смешанных культурах. Агар после роста таких культур не содержал активного вещества. Токсическое вещество нельзя было также извлечь из таких культур растворителями. Таков же характер антагонистического действия кишечной палочки на возбудителя сибирской язвы (Изоболинский и Соболева [1]), выделенного из пыли воздуха Micrococcus tetragenes, на Bac. pestis (Туманский [8]), ацидофильного микроорганизма на стрептококки Schiller [9] и т. д. Количество таких примеров можно было значительно увеличить.

Пути, при помощи которых осуществляется угнетающее действие одной формы на другую при подобных антагонистических взаимоотношениях, до сих пор не нашли объяснения. Ни пространственная теория Байля (Wikullil [10]), ни гипотеза быстро разрушающихся энзимов (Манолов [2]), ни попытки объяснить антагонистическое действие выделением токсических летучих веществ или лучистой энергии не нашли экспериментального подтверждения.

Совершенно другие результаты дало нам исследование смешанных культур бактерий и пенициллов, поставленных в условия, обеспечивающие господство бактерий над грибом. Работа проведена следующим образом.

В пять эрленмейеровских колб емкостью в 100 см³ было налито по 70 см³ стерильного мясопептонного бульона. Четыре из них были заражены культурой выделенного нами штамма бактерий и поставлены в термостат на 24°. Через 48 часов, когда жидкость в зараженных колбах сильно помутнела и на поверхности ее образовалась мощная бактериальная пленка, в две колбы было внесено по 5 см³ взвеси конидий Pen. notatum в стерильной воде, смытых с косого агара. Все колбы подверглись дальнейшей инкубации в термостате при той же температуре при периодическом встряхивании. Через 48 часов после внесения конидий гриба установить наличие мицелия в зараженных колбах можно было по отдельным небольшим паутинистым образованиям, взвешенным в питательной среде или лежащим на дне колбы.

Через 96 часов после начала опыта жидкость каждой из зараженных колб была профильтрована через свечи Шамберлена. Полученный фильтрат был испытан как питательная среда для развития пенициллиума. Контролем служил мясопептонный бульон в 5-й колбе, остававшийся стерильным в течение опыта.

Высев пенициллиума в серии пробирок с 2 см³ фильтрата указанных четырех колб и наблюдения за развитием грибных проростков в культуре висячих капель этих фильтратов показали, что фильтрат колб, где в течение четырех суток шло развитие чистой культуры бактерий, представляет собой среду, столь же благоприятную для развития гриба, как и исходный стерильный бульон. В фильтрате же среды, где в течение предыдущих 48 часов шло совместное развитие бактерий и гриба, внесенные конидии претерпевают то же характерное угнетающее действие, как и в опытах с живой бактериальной культурой.

Этот опыт был повторен еще дважды на питательной среде из картофельного отвара — результаты были те же самые.

Приведем краткое описание одного из опытов по измерению длины 18-часовых проростков Pen. notatum в висячих каплях фильтратов указанных культур и в стерильном бульоне.

Из фильтрата каждой колбы было взято стерильными пипетками по 2 см³ и внесено в стерильные пробирки. В пятую пробирку было внесено 2 см³ исходного бульона. Во все пробирки было добавлено затем по две капли взвеси конидий Pen. notatum в стерильной воде.

После перемешивания из каждой пробирки были приготовлены стерильными стеклянными капиллярами препараты для культуры висячих капель. Всего было сделано по 6 препаратов на каждые из 5 вариантов взвесей конидий, по 9 капель на каждом препарате.

Измерения производились, как уже указывалось, через 18 часов после начала опыта под микроскопом при помощи окулярной линейки. Данные в табл. 1 приведены в делениях этой линейки (табл. 1 и 2).

Таблица 1

Стимулирующее действие выделений Pen. notatum на образование биологически активных веществ бактериями

№	Вариант опыта	Количество измеренных проростков	Длина 18-часовых проростков (в делениях окулярной линейки)		
			максимальная	минимальная	средняя
1	Фильтрат чистой бактериальной культуры	111	48	3	16,470±0,654
2	Фильтрат смешанной культуры бактерий и гриба	119	11	1,5	3,75±0,171
3	Исходный стерильный бульон . .	105	44	5	18,475±0,722

Таблица 2

Достоверность различий между вариантами опыта

Сравниваемые варианты	Различие	Ошибка разницы	Достоверность
1-й и 3-й	2,0	0,97	2,06
1-й и 2-й	12,72	0,85	14,96
2-й и 3-й	14,72	0,90	16,36

Из приведенных таблиц видно резкое различие в развитии молодых проростков гриба во 2-м варианте опыта по сравнению с остальными двумя вариантами. Средняя длина этих проростков почти в 5 раз меньше, максимальная длина их достигла только 11 делений окулярной линейки против 49—44 делений в остальных варинтах (одно деление равно 15 μ).

Достоверность различий между длиной проростков во 2-м варианте опыта и в остальных двух вариантах несомненна (14, 96 и 16, 36).

Вариационные кривые измеренных проростков в каплях всех трех вариантов также показывают, как близко совпадают кривые 1-го и 3-го вариантов и как резко отличается от них кривая 2-го варианта — фильтрата совместной культуры бактерий и пенициллa (рис. 2).

Различия между проростками 1-го и 3-го вариантов не являются достоверными. Максимальная длина проростков, установленная при измерении всех трех вариантов (48 делений линейки), относится именно к

1-му варианту — фильтрату чистой бактериальной культуры. Кроме того, самый характер развития проростков — толщина гиф, переход к образованию боковых ветвей — был в этой среде тождествен с характером развития гриба в стерильном бульоне и резко отличался от характера развития проростков в фильтрате смешанной культуры гриба и бактерий. Возможно, что некоторое отставание средней длины проростков 1-го варианта от контроля можно объяснить поглощением некоторой части питательных веществ из среды бактериальной культурой, развивавшейся здесь в течение предшествовавших четырех дней. Но возможно, также, что в основе этого отставания в росте проростков лежат и более существенные причины — выделение бактериями биологически активных веществ и в чистой культуре. Но в таком случае их выделяется столь мало, что доказать наличие их с достоверностью нет возможности.

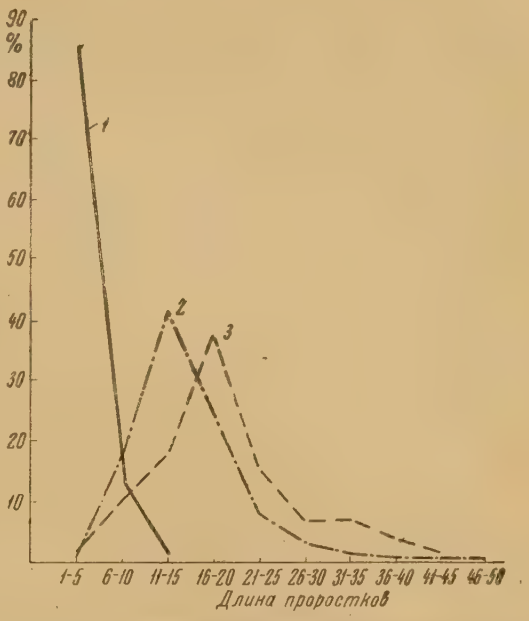

Рис. 2. *1* — длина 18-часовых проростков Pen. notatum в фильтрате смешанной культуры бактерий и гриба; *2* — в фильтрате чистой культуры бактерий; *3* — в исходной питательной среде, в делениях окулярной линейки. Одно деление равно 15 μ.

Способность бактерий выделять биологически активные вещества в смешанных культурах с грибом экспериментально доказана нами и в другом опыте.

В чашки Петри наливался мясопептонный агар. Поверхность агара застилалась стерильным листиком целлофана, и поверх последнего засевалась исследуемая культура. Очевидно, диффузия питательных веществ через целлофан идет без особых затруднений, так как рост колонии как пенициллa, так и бактерий в этих условиях заметно не отличается от роста их непосредственно на поверхности агара. Через определенное время целлофан вместе с выросшей на его поверхности колонией удаляется из чашки и агар на месте бывшей колонии засевается снова культурой гриба.

Допуская, что диффузия веществ, выделяемых колонией, идет через целлофан в агар с такой же легкостью, как и поступление питательных веществ из агара, мы получаем возможность изучить влияние выделений колонии, росшей на целлофане, на развитие культуры вторичного засева (после удаления целлофана).

В одном из таких опытов конидии Pen. notatum были смыты с косого агара 5 см³ стерильной воды. Из этой исходной взвеси конидий (1-е разбавление) было приготовлено четыре последующих разбавления перенесением каждый раз 1 см³ взвеси конидий предыдущего разбавления в 2 см³ стерильной воды в следующей пробирке. Таким образом, каждое разбавление содержало конидий пенициллa приблизительно в 3 раза меньше предыдущего, а последнее,— 5-е по сравнению с исходным, 1-м,— в 81 раз меньше.

Во все пять разбавлений конидий гриба затем внесены бактерии из расчета 0,01 см³ суточной бактериальной культуры на кубический сантиметр среды в пробирке.

Из полученных смесей конидий гриба и бактерий, где на приблизи-

тельно одинаковое количество бактериальных клеток было разное количество конидий, произведены петлей отсевы на целлофан, наложенный на поверхности агара в чашке Петри. Кроме того, были сделаны отсевы чистой культуры гриба — без бактерий и чистой культуры бактерий — без гриба. Две чашки оставлены без засевов — контроль.

Получилось таким образом 8 вариантов опыта: контроль, чистая культура гриба, пять смесей гриба и бактерий в разных количественных соотношениях и чистая культура бактерий. Выращивание проводилось в термостате при 24°. Через 70 часов после засева культуры были просмотрены и дана оценка состоянию грибных и бактериальных колоний. Оценка проводилась по пятибалльной системе по следующим показателям: 1 — следы гриба — одиночные гифы над поверхностью субстрата; 2 — гриб хорошо заметен в виде пушка; 3 — отдельные конидиеносцы, колония белая; 4 — редко стоящие конидиеносцы, но характерная окраска уже выступает; 5 — грибная колония.

Состояние бактериальных колоний оценивалось еще более субъективно — по занимаемой ими площади. После учета состояния обеих форм в каждом засеве выводился средний балл развития гриба и бактерий в каждом варианте опыта.

Затем целлофан был удален, и агар на местах росших здесь колоний засеян вторично взвесью конидий Pen. notatum в стерильной воде. После вторичного выращивания засевов при той же температуре в течение трех суток проведена оценка развития гриба в засевах всех вариантов опыта.

Приводим полученные данные.

Таблица 3

Влияние первичной культуры на целлофане на вторичный рост гриба

Вариант опыта	Количество засевов	Засев на целлофане		Целлоф. удален
		Средний балл		
		развитие гриба	развитие бактерий	развитие гриба вторичного засева. Средний балл
Контроль	4	нет	нет	5,0
Чистая культура гриба	6	5,0	»	5,0
Гриб (1-е разбавление) и бактерии	10	4,7	0,9	4,2
Гриб (2-е разбавление) и бактерии	12	3,8	2,0	4,0
Гриб (3-е разбавление) и бактерии	16	1,3	4,0	1,8
Гриб (4-е разбавление) и бактерии	12	0,7	4,0	2,2
Гриб (5-е разбавление) и бактерии	10	0,0	5,0	0,8
Чистая культура бактерий	10	нет	5,0	4,4

Данные последней графы таблицы — развитие Pen. notatum во вторичном засеве в зависимости от предшествовавшей ему культуры на целлофане изображены в виде кривой (рис. 3); по горизонтальной оси отложены варианты опыта — убывающие концентрации гриба в первичных засевах, по вертикальной оси — развитие гриба во вторичных засевах (средний балл).

Из данных опыта видно, что чистый гриб, развиваясь на целлофане, не оказывал никакого угнетающего действия на последующее развитие грибной колонии вторичного засева. Количество питательных веществ в агаре было, очевидно, вполне достаточным, чтобы не сказалось поглощение некоторой части их предшествовавшим трехдневным развитием колонии Pen. notatum. В следующих вариантах опыта — в посевах смеси гриба и бактерий — налицо выступает резкое угнетание гриба во вторичных засевах. При этом это угнетенное развитие гриба не может быть объяснено недостатком питательных веществ: во всех случаях было хо-

рость роста и биохимическую активность, что может иметь место при бактериальных инфекциях. Стимулирующее влияние симбионтов на культуру гриба или, наоборот, культуры бактерий, была большой частью описана раньше, однако, в редких случаях удавалось установить, что же именно стимулирует, какие вещества выделяет гриб во внешнюю среду.

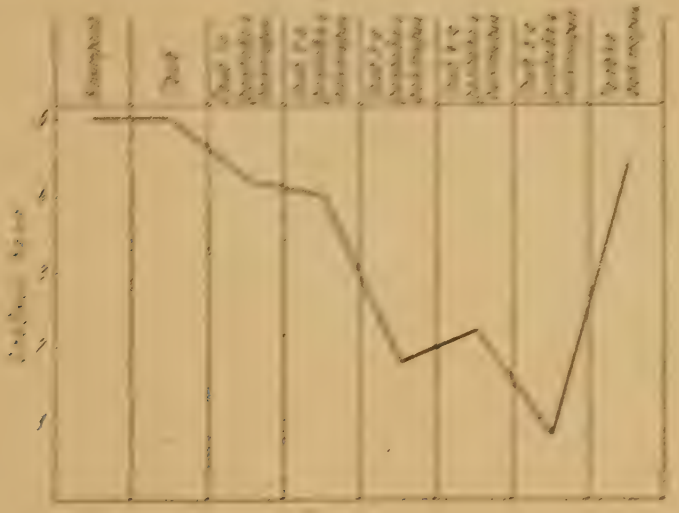

Рис. 8. Влияние штаммов культуры на колонии на рост вторичных колоний Ps. putida. Развитие гриба во вторичных колониях (средний балл).

В смешанных колониях симбионта и бактерий, на ранних стадиях развития можно видеть гриб, выступающий в виде пучка плотно лежащих друг возле друга гиф, от которых отходят прямые ветви, образующие вокруг колонии бактерий. Гифы гриба, выходящие на поверхность, в большинстве случаев не разветвляются. В зоне развития симбионта развитие мицелия гриба полностью подавлено бактерией. Соответственно этому все бактерии, находящиеся в агаре вокруг, подавляют развитие гриба во вторичных зонах. Однако выделение этих веществ прекращается вскоре, и гриб начинает развиваться в случаях, когда вторичную зону гриба пересевают на питательную среду с культурой бактерий.

На основании данных проведенных двух серий опытов мы можем сказать, что бактериальные антибиотические вещества не выделяются бактериями или выделяются в количествах, недостаточных, чтобы они могли действовать на культуру гриба. Эти вещества выделяются в ощутимых количествах только в культурах симбионтов, как результат развития бактерий на питательной среде.

Взаимное стимулирующее влияние бактерий и гриба объясняет еще одну особенность, отмеченную в опыте, они растут между собой и взаимно друг друга.

В опыте по опыту с добавлением к 2 см³ фильтрата, содержащего бактериальные антибиотические вещества, было добавлено по 1 см³ бульона, содержащего 30 тысяч спорангиоспор. Это количество спорангиоспор высевалось в активный фильтрат, можно было установить, что развитие гриба на активном фильтрате бактерий значительно задерживается. В зоне развития активных фильтратов бактерий спорангиоспоры могут прорастать, но развитие мицелия гриба задерживается. Так, развитие мицелия гриба на фильтратах по 2 см³ и больше на пятые сутки в 25-

---

¹ Следует отметить, что в некоторых опытах мы не наблюдали развития гриба на обоих фильтратах — активных культурой и активных культурой бактерий, — одних и тех же опытах или развития симбионта

24 мм, полностью инактивировался после инкубации его при 24° в течение 4 часов с таким же количеством активного фильтрата бактерий.

Выводы

1. Антагонистическое действие культуры Bac. subtilis на пенициллосуществляется тем же путем, что и действие гриба на бактерии, т. е. путем выделения специфических биологически активных веществ.

2. В отличие от пенициллина данная культура Bac. subtilis выделяет свои биологически активные вещества в экспериментально устанавливаемых количествах только в смешанных культурах с грибом, повидимому, в результате изменений в процессах обмена веществ в бактериальной клетке, происходящих под влиянием веществ, выделяемых пенициллом.

3. Биологически активные выделения обеих конкурентных форм реагируют между собой в среде и инактивируют друг друга.

4. Таким образом, исход конкуренции между грибом и бактерией зависит от интенсивности выделения каждым из них специфических веществ в окружающую среду. Господствовать в смешанной культуре будет та форма, биологически активные выделения которой будут преобладать над выделениями конкурента.

5. Это делает понятным значение количественного соотношения обоих конкурентов в смешанной культуре для исхода конкуренции между ними. При данных, конкретно сложившихся условиях только определенное минимальное количество клеток одного конкурента может стать источником достаточного количества биологически активных веществ, чтобы инактивировать выделения другого конкурента и подавить его жизнедеятельность.

Институт генетики
Академии Наук СССР
Москва

Получено 29.III.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Изоболинский Н. и Соболева Р. К вопросу об антагонизме микробов. Журн. микроб., эпидем. и иммунобиол., **13**, 380, 1934.
2. Манолов Д. Антагонизм между Bact. coli и Bact. typhi в смешанных культурах in vitro. Журн. микроб., эпидем. и иммунобиол., **14**, 524, 1935.
3. Нахимовская М. Антагонизм между актиномицетами и почвенными бактериями. Микробиология, VI, вып. 2, 131, 1937.
4. Перетц Л. и Мостова Р. О лучистой сущности антагонизма. Вестн. рентгенол. и радиол., XIV, 349, 1935a.
5. Перетц Л. и Мостова Р. О взаимодействии микробов на расстоянии. Вестник рентгенол. и радиол., XIV, 352, 1935b.
6. Перетц Л. и Мостова Р. О сущности взаимодействия микробов на расстоянии, Вестник рентгенол. и радиол., XVII, 310, 1936.
7. Стрешинский М. Антагонистические взаимодействия между Penicillium notatum и Bac. subtilis. Микробиология, XVIII, 7, 1949.
8. Туманский В. К изучению антагонизма у микроорганизмов, Вестник микробиол., эпидем. и паразитологии, XIV, 115, 1935.
9. Schiller J. Sur les produits des microbes en association. Ctbl. Bakt., Or. 1. **73**, 123, 1914.
10. Wikullil L. Wachstumsverhältnisse in Bakterienmischpopulationen. Ctbl. Bakt., Or. I, **126**, 488, 1932.

АЭРОБНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ ЛЬНЯНОЙ МОЧИЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ В ВЫСОКОМ СЛОЕ

А. Л. Бычковская

Накопление органических кислот в процессе анаэробной мочки льна является основным препятствием к повторному использованию отработанной мочильной жидкости. Биологическая регенерация жидкости основана на разрушении кислот микроорганизмами [6, 11]. Согласно указаниям ряда авторов [3, 10], органические кислоты мочильной жидкости уже в процессе самой мочки льна подвергаются частичному разрушению. Достаточно сильное разрушение кислот, в результате которого жидкость становится вновь пригодной для эксплоатации, может быть достигнуто двояким путем: 1) изменением технологического режима мочки в сторону усиления аэробиоза или 2) оставлением отработанной жидкости на более или менее продолжительный срок в специальных водоемах для регенерации. Хотя технологическая сторона вопроса находится на пути к своему разрешению, биохимизм процесса регенерации и особенно его микробиологическая природа до сих пор изучены чрезвычайно слабо. Проводившиеся нами систематические исследования были начаты с изучения самопроизвольного процесса регенерации, возникающего в отработанной мочильной жидкости при ее хранении в высоком слое.

Методика

Отработанная мочильная жидкость, после удаления из нее вымоченного льна, регенерировалась при 33—35° и 15—17° простым хранением в пятилитровых банках и сосудах Фрибеса. Так как особый интерес представляла микрофлора наиболее удаленных от поверхности слоев, то пробы для микробиологического анализа брались осторожно из глубины невзболтанной жидкости, на расстоянии 2 см от дна. Химические же анализы производились обычным путем, т. е. из тщательно перемешанной средней пробы. Летучие жирные кислоты определялись по Дюкло, общий азот — по Кьельдалю, белковый азот по Барнштейну и аммиачный азот — по Фолину. Для учета микроорганизмов по физиологическим группам применялись следующие среды: жидкие картофельная и крахмальная в высоком слое — для группы маслянокислых, МПБ — для гнилостных, среда Кесслера — для Coli-подобных, суслоагар с мелом — для молочнокислых и нейтральный мочильный агар (или НМА) — для бактерий, сбраживающих соли летучих жирных кислот.

Динамика pH, летучих кислот и основных форм азота

Систематическими анализами было установлено, что в процессе регенерации резко снижается содержание летучих кислот, в результате чего падает общая кислотность и повышается pH; при этом разрушение уксусной кислоты протекает обычно более энергично, нежели потребление масляной. Содержание общего азота в жидкости не изменяется, содержание же белковой формы несколько повышается (рис. 1). Аммиачный азот обнаруживается в незначительных количествах (2—4 мг/л). Те же закономерности удерживаются и для регенерации при 15—17°,

хотя процесс в целом значительно замедляется. Результаты, полученные в отношении динамики аммиачного азота, не согласуются с данными Иванниковой [1], обнаружившей в регенерированной жидкости значительный прирост общего азота, преимущественно за счет обогащения аммиачной его формой.

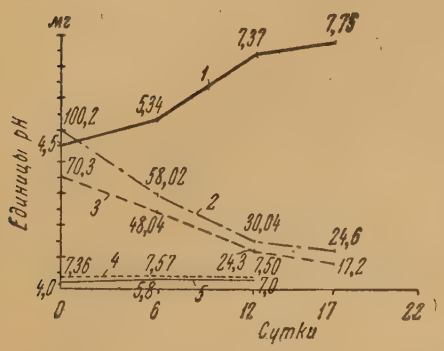

Рис. 1. Регенерация при 33° после мочки без прибавок. *1* — pH; *2* — уксусная кислота; *3* — масляная кислота; *4* — общий азот; *5* — белковый азот

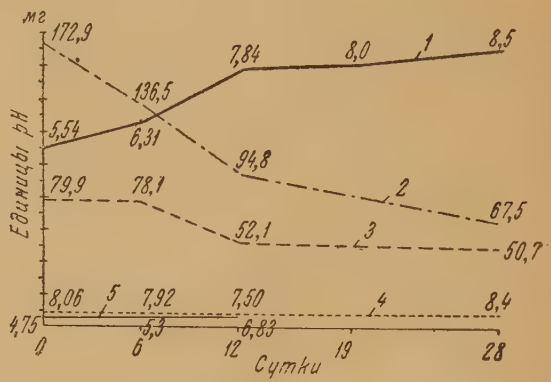

Рис. 2. Регенерация после мочки с $NaHCO_3$. *1* — pH; *2* — уксусная кислота; *3* — масляная кислота; *4* — общий азот; *5* — белковый азот

Регенерация после мочки с двууглекислой содой как в отношении кислот, так и в отношении азота носит тот же характер, что и в отсутствие прибавок. Несколько отличной является лишь динамика pH: подщелачивание жидкости при более высоком исходном значении pH протекает значительно быстрее, что отражено более высоким расположением кривой (рис. 2).

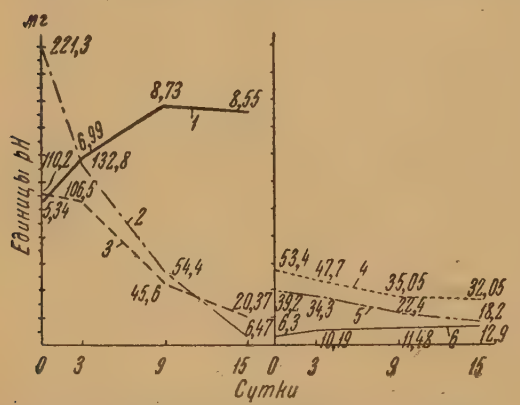

Рис. 3. Регенерация после мочки с NH_4HCO_3 *1* — pH; *2* — уксусная кислота; *3* — масляная кислота; *4* — общий азот; *5* — белковый азот; *6* — NH_4 — азот

Несколько иная картина наблюдается при регенерации после мочки с NH_4HCO_3 (рис. 3). Несмотря на более высокое исходное содержание кислот, регенерация при 33° протекает весьма интенсивно и реакция жидкости уже через трое суток становится нейтральной. Содержание белкового азота значительно повышается, содержание же общего и аммиачного азота заметно падает. Параллельное расположение кривых общего и аммиачного азота заставляет отнести потери азота преимущественно за счет свободного выделения аммиака наружу, что несомненно вызвано легкой его летучестью в щелочной среде при относительно высокой температуре.

При сопоставлении полученных данных отчетливо обнаруживается, что наличие нейтрализующих веществ в процессе мочки льна и обусловленное этим повышенное содержание в жидкости фракции связанных летучих кислот ускоряет момент последующего наступления нейтральной реакции при регенерации. Как показали анализы, летучие

кислоты к этому моменту разрушаются далеко не полностью. Остаточное содержание связанных летучих кислот после мочки с нейтрализующими соединениями может оказаться относительно довольно высоким (кривые на рис. 1, 2 и 3).

Динамика и характер микрофлоры

Результаты количественного анализа микрофлоры показали (табл. 1), что наиболее стабильной группой в процессе регенерации являются маслянокислые бациллы.

Таблица 1

Динамика микрофлоры в процессе регенерации жидкости при 33° (в тысячах на 1 мл)

Срок	Группа				
	маслянокислые	гнилостные	Coli-подобные	молочнокислые	разрушающие соли летучих жирных кислот
В начале опыта . .	7000	7000	7000	14000	800
Через 6 суток . . .	7000	11000	250	1500	11000
Через 11 суток . . .	7000	60000	6	700	38000

Устойчивость титра этой группы следует объяснить тем, что уже при удалении льна из жидкости подавляющее большинство клеток маслянокислых бактерий находится в виде спор или палочек со зрелой спорой. Резкое падение титра показывают аэробные кислотообразующие группы — молочнокислые и Coli-подобные бактерии, что, вероятнее всего, вызвано обеднением жидкости пригодными источниками углеродистого питания. Увеличивается количество гнилостных бактерий. Значительно увеличивается количество микроорганизмов, разрушающих соли летучих жирных кислот. Эта, весьма существенная для процесса регенерации группа учитывалась на нейтральном мочильном агаре (НМА), применявшемся Марковой [4]. НМА готовится на отработанной мочильной жидкости, в которой органические кислоты нейтрализованы мелом. Кислоторазрушающие микроорганизмы дифференцируются на этой среде по появлению кристаллов $CaCO_3$ на колониях и вокруг колоний. Среди форм, выраставших на НМА, обильно были представлены слизеобразующие и флуоресцирующие бактерии, в меньшем количестве попадались спороносные палочки и кокки. Нередко подсчет бактериальных колоний был затруднен из-за обилия дрожжеподобных колоний, особенно принадлежащих Oidium. Присутствие дрожжеподобных организмов указывало на проникновение микроорганизмов из поверхностных слоев в глубинные. Внешним признаком начала процесса было появление поверхностной пленки, состоявшей при бактериоскопическом просмотре из дрожжеподобных и бактериальных клеток.

Как показало дальнейшее изучение чистых культур, изолированных отсевами из колоний на НМА, некоторые дрожжеподобные формы являются энергичными кислотопотребляющими организмами, способными производить сжигание летучих кислот при довольно низких значениях pH (4,0—4,5). Что же касается бактериальных форм, то ни одна из отвитых с нейтрального агара культур аналогичной способностью в сколько-нибудь заметной степени не обладала (проверка производилась на стерилизованной отработанной мочильной жидкости).

Эти результаты указывали, с одной стороны, на недостаточную пригодность методики отбора культур, а с другой,— на необходимость проверки полученных данных на образцах жидкости различного происхождения. В связи с этим дальнейшие поиски активных организмов

производились не только на нейтральном, но и на кислом мочильном агаре (КМА), приготовленном на кислой мочильной жидкости с прибавлением 0,1% пептона или 0,1% NH_4Cl. Микробиологическому анализу подвергалась как жидкость, регенерированная в лабораторных условиях, так и жидкость, доставленная из Лихославльского опытного регенератора, в котором процесс регенерации протекал по ясно выраженному анаэробному типу.

Таблица 2

Количественный учет микрофлоры в регенерированной жидкости (в тысячах на 1 мл)

Исследованный материал		Группа				Кислоторазрушающие	
		маслянокислые	гнилостные	молочнокислые	Coli подобные	на нейтральном агаре	на кислом агаре
Лабораторный	Средняя проба	11000	119000	400	2,5	138000	620
Заводской	Из глубины	2500	20000	150	60	11000	10
	Из верхних слоев	2500	5000	400	Не обнаружено	2000	600
	Из глубины	600	730	540	1,3	300	170

Данные анализов (табл. 2) подтвердили некоторые результаты предыдущих исследований и позволили вскрыть ряд новых закономерностей. Подтвердилось, что доминирующими группами в регенерированной жидкости являются маслянокислые и гнилостные бактерии. Качественный анализ маслянокислых бацилл обнаружил наличие трех известных в мочке типов: Granulobacter pectinovorum, Bac. felsineus и невымачивающего лен Bac. amylobacter. В группе, выраставшей на мясопептонных средах, преобладали слизеобразующие и флуоресцирующие бактерии, часто вырастали также спороносные палочки и кокки.

Характер микрофлоры, разрушающей летучие жирные кислоты, удалось выявить с достаточной полнотой путем одновременного проведения анализов на нейтральных и кислых средах и последующего изучения чистых культур. Оказалось, что большинство микроорганизмов, вырастающих на мясопептонных средах, появляются также и на нейтральном мочильном агаре (НМА) и учитываются как кислоторазрушители по появлению кристаллов мела в зоне роста колоний. Они представлены вышеупомянутыми и широко распространенными слизеобразующими, флуоресцирующими и спороносными бактериями. Будучи чувствительными к кислым значениям pH, эти микроорганизмы не появляются на чашках с кислым мочильным агаром (КМА) и при высеве в стерильную кислую мочильную жидкость вовсе не развиваются. Совершенно иного характера является микрофлора, вырастающая на кислом агаре. Она представлена несколькими дрожжеподобными и немногими бактериальными организмами, не растущими на мясопептонных средах. Чистые культуры этих микроорганизмов при проверке оказались энергичными разрушителями летучих жирных кислот. При высеве их в кислую мочильную жидкость процесс регенерации начинается с поверхности и распространяется дальше, последовательно от верхних слоев к нижним. В силу этого «раскисление» жидкости протекает тем медленнее, чем больше глубина слоя.

Количество микроорганизмов, приспособленных к кислой реакции, в поверхностных слоях выше, нежели в глубинных. Анализ обнаружил, что в лабораторном материале перевес имеют дрожжевидные формы, в производственном — бактериальные. Для обоих материалов, несмотря на различный биохимизм, характерно наличие в поверхностных слоях

более обильной микрофлоры, нежели в глубинных. Описание качественного состава аэробной кислоторазрушающей микрофлоры мочильной жидкости будет дано отдельно.

Как показывает верхняя половина табл. 3, изолированные с кислого агара культуры, будучи высеяны в кислую мочильную жидкость, способны сжечь до 85% исходного количества летучих кислот, доводя при этом pH жидкости до резко щелочного уровня. Масляная кислота разрушается ими медленнее, чем уксусная.

Что касается культур, изолированных с нейтрального агара, то способность этих широко распространенных микроорганизмов пользоваться солями жирных кислот как источником углерода была подтверждена засевами в искусственную среду с минеральными солями и уксуснокислым калием (см. нижнюю половину табл. 3).

Обширный экспериментальный материал, устанавливающий способность сжигания маслянокислых солей у широко распространенных в природе микроорганизмов, приведен в работе Bredemann и Werner [9]. Однако роль этих форм в процессе регенерации мочильной жидкости ограничена фактором кислотности и может считаться значительной лишь в более поздний период процесса.

Попытки вызвать вышеописанными культурами анаэробное сбраживание кислот с выделением газообразных продуктов оказались безрезультатными. Положительных результатов удалось добиться лишь при заражении отработанной мочильной жидкости илом из заводского регенератора.

Характер и возбудители этого процесса будут описаны в следующем сообщении.

Таблица 3

Разрушение летучих кислот чистыми культурами

Среда	Культура	Срок роста в сутках	pH	Летучие кислоты в мг на 100 мл			% сброженных кислот
				в мл 0.1 *N* $Ba(OH)_2$	масляная	уксусная	
Мочильная жидкость	№ 2 дрожжеподобная типа Mycoderma	10	8.0	7,2	трикислоты*		(по щелочи) 85,1
+0,2% пептона	№ 22 овальный кокк	6	8,0	10,6	71,6	4,2	79,1
	№ 1 мелкая коккобактерия	10	8,0	13,9	125,7	0	71,2
	Контроль незасеянный	—	4,91	48,2	175,6	146,1	—
Искусственная среда с CH_3COOK и минеральными солями	Слизеобразующая бактерия	9	8,0	—	—		(по весу)
		9	8 0	—	—	115,2	51,8
	Палочка типа Bact. fluorescens	9	8,0	—	—	75,4	68,4
	Контроль неза сеянный		7,40	—	—	239,0	—

* Кроме масляной и уксусной кислоты, присутствует третья кислота, поэтому точное соотношение кислот не было установлено.

Технологическая эффективность регенерированной жидкости и ее причины

Проводившиеся в сосудах Фрибеса опыты мочки льна позволили установить следующую закономерность: независимо от наличия нейтрализующих соединений и абсолютного исходного содержания летучих кислот, мочка на регенерированной жидкости протекает чрезвычайно

интенсивно: «пенное» брожение начинается через два часа после заливки соломки и носит весьма бурный характер, продолжительность мочки сокращается на 50%, качество волокна либо одинаково с контрольным, либо на один или два номера выше. Конечное значение pH при этом всегда значительно выше, нежели в контрольной жидкости. Эту буферность можно объяснить, с одной стороны, вымытыми из стебля и находящимися к концу регенерации в виде карбонатных солей катионами калия, магния и кальция, а с другой — повышенным содержанием белковых веществ и продуктов их распада. Обогащение жидкости бикарбонатами подтвердилось титрованием по Вардеру (см. Тананаев [8]). Таким образом, регенерированная жидкость отличается высокой буферностью, повышенным содержанием белкового азота и высоким титром маслянокислых бактерий, в том числе пектиноразлагающих. Совокупностью этих причин можно объяснить наблюдавшуюся в лабораторных условиях технологическую эффективность регенерированной жидкости. Однако в отношении таких случаев высокой активности, какие наблюдал в своих опытах Минервин [5] и где скорость последующих мочек исчислялась часами, может возникнуть предположение о накоплении в жидкости льновымачивающего комплекса ферментов. Для проверки этого были поставлены опыты по следующей схеме: 1) мочка в регенерированной жидкости в присутствии антисептика, 2) мочка в регенерированной жидкости, освобожденной от микроорганизмов фильтрованием через свечи Беркфельда, 3) мочка в регенерированной жидкости, прогретой при 60° с целью инактивации или ослабления предполагаемого комплекса ферментов и 4) мочка на водопроводной воде. Результат в отношении ферментов получился отрицательный. В присутствии толуола процесс вовсе не шел. В профильтрованной через свечу жидкости мочка имела место лишь при условии внесения нестерильного льна, т. е. внесения микрофлоры. Прогревание при 60°, не изменившее эффективности лабораторного материала, частично снизило (на 25%) активность жидкости заводского регенератора, что можно объяснить не только инактивацией ферментов, но и частичной пастеризацией микрофлоры.

Выше уже отмечалось, что летучие кислоты в процессе регенерации полностью не разрушаются и что остаточное количество кислот в случае внесения в мочку нейтрализующих соединений может быть довольно значительным. Этот факт в связи с фактом одинаковой активности жидкости, регенерированной с прибавками и без прибавок, позволяет сделать весьма важное заключение о том, что готовность или зрелость регенерированной жидкости определяется не общим содержанием в ней летучих жирных кислот, но степенью их нейтрализации. Другими словами, технологическим критерием конца регенерационного процесса должно служить наступление нейтральной реакции в жидкости. Правильность этого заключения подтверждается возможностью непосредственного повторного использования кислой жидкости, регенерированной химическим путем, т. е. простой нейтрализацией основаниями, например, двууглекислой содой, известью, золой [2, 7].

Заключение

Таким образом, данные качественного и количественного анализа микрофлоры устанавливают наличие в регенерированной жидкости сложного комплекса аэробных кислоторазрушающих микроорганизмов, резко отличающихся между собой различной чувствительностью к кислой реакции среды. Дрожжеподобные и бактериальные формы, приспособленные к низким значениям pH, играют важнейшую роль в ходе регенерации: именно этими формами начинается процесс «раскисления», хотя в количественном отношении перевес имеют не они, а широко распространенные, чувствительные к кислой реакции группы слизеобра-

зующих, флуоресцирующих и спороносных палочек. Кислоторазрушающая деятельность последних может в заметной степени проявиться лишь в более позднюю стадию процесса, когда реакция жидкости становится менее кислой (pH = 6,5—7,0). Таким образом, в ходе регенерации должна происходить смена микрофлоры, обусловленная фактором кислотности.

Возможность аэробного типа регенерации мочильной жидкости в высоком слое представляет не только теоретический, но и большой практический интерес. Практическое значение аэробного типа регенерации в условиях затрудненного доступа воздуха Минервиным отрицалось [5]. Активная деятельность микрофлоры поверхностных слоев подтверждается приведенными выше данными количественного ее учета в жидкости заводского регенератора. В условиях как холодноводной, так и заводской мочки, при наличии относительно больших площадей в водоемах для регенерации аэробная кислотопонижающая микрофлора должна играть заметную роль в процессе «раскисления» отработанной кислой жидкости.

Выводы

1. Регенерация мочильной жидкости в высоком слое может протекать по аэробному типу под воздействием комплекса дрожжеподобных и бактериальных кислоторазрушающих микроорганизмов.

2. Разрушение кислот начинается группами микроорганизмов, приспособленных к кислой реакции жидкости. Для дифференцирования и учета этих групп пригоден кислый мочильный агар.

3. Микроорганизмы, разрушающие летучие жирные кислоты в условиях нейтральной реакции, широко распространены. Для выявления и учета этих форм пригоден мочильный агар, нейтрализованный мелом.

4. Активность регенерированной жидкости обусловлена высокой буферностью и повышенным титром пектиноразлагающих бактерий.

5. Технологическим критерием конца регенерационного процесса может служить момент наступления нейтральной реакции в жидкости.

Всесоюзный научно-исследовательский
институт сельскохозяйственной
микробиологии
Ленинград

Получено 24.VIII.1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванникова Е. К исследованию биохимизма процессов регенерации мочильной жидкости. Льно-пенько-джутовая промышленность, № 12, 1932.
2. Кальманович Ф. Л. и Аврунина А. И. К вопросу о регенерации мочильной жидкости. Исследования по первичной обработке лубяных волокон, Сб. № 1, 1930.
3. Клупт С. Е. и Маркова З. С. Опыт применения заквасок при холодноводной мочке льна, Тр. Института с.-х. микробиологии, VII, вып. 2, 1935.
4. Маркова З. С. Granulobacter pectinovorum и микроорганизмы, разлагающие соли летучих жирных кислот. Тр. Института с.-х. микробиологии, VII, вып. 1, 1936.
5. Минервин В. В. Изыскание приемов регенерации мочильной жидкости анаэробным путем. Льно-пенько-джутовая промышленность, № 5—6—7, 1932.
6. Минервин В. В. и Аврунина А. И. Опыты мочки в регенерированной мочильной жидкости. Исследования по первичной обработке лубяных волокон. Сб. № 1, 1930.
7. Селибер Г. Л. Улучшение мочки льна путем внесения бактериальных заквасок и прибавок. Лен и конопля, № 10, 1938.
8. Тананаев Н. А. Объемный анализ, ГОНТИ, Свердловск — Москва, 1939.
9. Bredemann u. Werner. Untersuchungen über den biologischen Abbau der *n*-Buttersäure. Ctbl. Bakt., II, 86, 1932.
10. Ruschmann G. Grundlagen der Röste, 1923.
11. Tobler F. Neue Wege zur Reinigung der Abwässer. Faserforschung, 2, 1922.

ОБРАЗОВАНИЕ АЦЕТОИНА И 2,3-БУТИЛЕНГЛИКОЛЯ КУЛЬТУРОЙ AEROBACTER AEROGENES

Н. В. Орлова

Процесс ацетоиновой конденсации, результатом которого является образование ацетоина и его ближайших производных 2,3-бутиленгликоля и диацетила, широко распространен в мире микроорганизмов.

Впервые ацетоин был найден среди продуктов брожения Bacillus tartricus в 1901 г. Grimbert [6]. Затем образование ацетоина и его производных было показано для многих групп бактерий и дрожжей (для группы B. subtilis, B. mesentericus, для группы Aerobacter aerogenes, для гетероферментативных молочнокислых бактерий, для уксуснокислых бактерий, для красных и бесцветных бактерий рода Serratia, для светящихся бактерий, для родов Aerobacillus и Aeromonas, для стафилококков и тетракокков, для ацетонобутиловых бактерий и ряда других).

Известны случаи, когда до 50% сахара превращаются бактериями в ацетоин и 2,3-бутиленгликоль [2, 4]. В таких случаях говорят о «бутиленгликолевом» (Lemoigne [10]) или «ацетоиновом» (Горовиц-Власова [1]) брожении.

«Бутиленгликолевое» брожение было предметом многочисленных исследований как в Советском Союзе, так и за рубежом. Главное внимание при этом было обращено на изучение условий образования и разрушения бактериями бутиленгликоля, ацетоина, а также диацетила в связи с интересами практики (масло и молочные продукты, синтез каучука и пр.).

Немало работ посвящено также и вопросу о путях образования указанных продуктов (Дудыкина [3]).

Все работы последнего времени свидетельствуют о том, что образование ацетоина и 2,3-бутиленгликоля является результатом наиболее сложных превращений веществ в субстрате, сопровождающихся большим числом параллельно образующихся продуктов жизнедеятельности. К ним относятся, кроме указанных,— молочная, уксусная и муравьиная кислоты, этиловый спирт, углекислота и водород.

Однако вопросы взаимосвязи образования столь различных веществ и биологическое значение такой пестроты продуктов жизнедеятельности остаются неясными. Попытке дать некоторое освещение указанным вопросам и посвящена настоящая работа.

Экспериментальная часть

В качестве основного метода исследования выбрано изучение процесса в его динамике.

Объектом исследования взят организм из группы Aerogenes, выделенный нами весной 1945 г. из воды Москвы-реки. На основании изучения культуральных и морфологических особенностей выделенного штамма он был отнесен к Aerobacter aerogenes Beijerinck (Bergey). Глюкоза сбраживается с образованием кислот: молочной, уксусной, муравьиной; нейтральных продуктов: ацетоина, 2,3-бутиленгликоля и этилового спирта; газов: углекислого газа и водорода.

Методика исследования

Культура поддерживалась на мясопептонном бульоне. Опытные брожения проводились на синтетической среде следующего состава: 1—2% глюкозы. 0,5% пептона Дифко, 0.2% K_2HPO_4 и KH_2PO_4. Среда готовилась на водопроводной воде. Заражение опытных колб всегда производилось 23-24-часовой культурой в количестве 1—2,5% объемных. Температура инкубации 37°; pH среды определялся электрометрически и колориметрически.

В культуральной жидкости количественно определялись следующие вещества: сахар, молочная кислота, летучие кислоты (муравьиная и уксусная), 2,3-бутиленгликоль, ацетоин, этиловый спирт. Количественное определение выделяющихся газов не производилось.

Сахар определялся по методу Бертрана, но так как ацетоин, образующийся из сахара при брожении, также обладает восстанавливающей способностью и реагирует с раствором Фелинга, то необходимо было ввести поправку на ацетоин.

Восстанавливающая способность ацетоина была установлена рядом авторов. Так, Kling [8] пишет, что 1 мг ацетоина соответствует 2,85 мг меди, а по Stahly и Werkman [16] — 3,01 мг. Эту разницу, очевидно, надо отнести за счет того, что количество восстановленной меди не находится в прямой зависимости от концентрации ацетоина в пробе.

Представлялось целесообразным составить свою таблицу восстанавливающей способности ацетоина, которой в дальнейшем и пользоваться для внесения поправок в определение сахара в присутствии ацетоина. С этой целью ацетоин отгонялся из культуральной жидкости и в отгоне, не содержащем других восстанавливающих веществ, определялся по Бертрану.

Таблица 1

Миллиграммы ацетоина, соответствующие миллиграммам меди, по Бертрану

№ п/п	Ацетоин	Медь
1	31	87,08
2	28	78,93
3	25	70,90
4	22	63,94
5	19	55,01
6	16	47,2
7	13	39,09
8	10	30,75
9	7	22,075
10	4	12,968

В среднем 1 мг ацетоина соответствует 2,96 мг меди.

Молочная кислота определялась по методу Фридемана в остатке после отгонки 2,3-бутиленгликоля и других летучих продуктов.

Летучие кислоты — отгонкой с фосфорной кислотой и последующим титрованием отгона 0,1 *N* KOH. Количества летучих кислот во всех опытах были невелики, и соотношение уксусной и муравьиной кислот не могло быть установлено разгонкой по методу Дюкло. Поэтому отдельно определялась муравьиная кислота и по разности находилось количество уксусной кислоты.

В случае отсутствия в культуральной жидкости ацетоина (опыты со сбраживанием уксуснокислого и молочнокислого кальция) муравьиная кислота определялась методом Уткина-Финке.

В случае наличия ацетоина (брожение глюкозы) этот метод не мог быть применен, так как ацетоин восстанавливает $HgCl_2$, так же как и муравьиная кислота [14]. Последняя разрушалась окисью ртути, а оставшаяся уксусная кислота отгонялась и определялась титрованием 0,1 *N* KOH.

2,3-бутиленгликоль отгонялся из культуральной жидкости по методу Brokman и Werkman [5]. Культуральная жидкость предварительно освобождалась от сахара (сахар осаждался раствором $CuSO_4$ и $Ca(OH)_2$).

В отгоне 2,3-бутиленгликоль определялся методом Jonson [7]. Вводилась поправка на ацетоин.

Кроме того, для определения 2,3-бутиленгликоля был применен метод окисления его бромом по Matignon, Moureu и Dode [11] в ацетоин и последующее определение ацетоина по методу van Niel [13].

Метод van Niel до некоторой степени может заменить идентификацию 2,3-бутиленгликоля и ацетоина, так как по этому методу 2,3-бутиленгликоль и ацетоин окисляются в диацетил, который с солянокислым гидроксиламином и солями никеля образует характерный нерастворимый в воде красный осадок — никельдиметилглиоксим. Этот осадок может быть получен в условиях анализа только из 2,3-бутиленгликоля, ацетоина и диацетила.

Ацетоин определялся методом van Niel, а также методом Langlykke и Peterson [9]. Этиловый спирт определялся по методу Мартена. Ацетоин также мешает определению спирта, так как отгоняется вместе с ним и окисляется бихроматом калия. Опытным путем была найдена поправка на ацетоин к определению спирта; 1 мг ацетоина соответствует 0,8 мг спирта.

Число бактерий подсчитывалось по методу Виноградского.

Динамика процесса образования ацетоина и 2,3-бутиленгликоля культурой Aerobacter aerogenes

Предварительные опыты показали, что соотношение конечных продуктов брожения глюкозы Aerobacter aerogenes зависит от активной кислотности среды, поэтому при изучении динамики процесса брожения начальное pH устанавливалось в границах, оптимальных для накопления ацетоина и 2,3-бутиленгликоля, т. е. pH = 6—6,5.

Вышеописанная среда разливалась в колбы по 200 мл. Колбы заражались одновременно суточной культурой Aerobacter aerogenes и через определенные промежутки времени брались для проведения анализов.

Таблица 2

Время от начала брожения в часах	pH	Сброжено сахара в мМ/л	Образование (в мМ/л)				Число бактерий в 1 мл
			ацетоина	2,3-бутиленгликоля	летучих кислот *	этилового спирта	
0	6,4	0					
3	6 32	10,9	0	0	5,5	2 74	$5,7 \cdot 10^7$
6,5	6,31	21,3	0,32	1,1	13,5	10,7	$9,86 \cdot 10^7$
10,5	6,21	28,25	0,64	0,99	18,2	24,8	—
14	6,1	46,34	1,59	12 02	15,5	27,0	$18,86 \cdot 10^7$
27	5,93	53,4	2,55	22,04	14.0	35,79	$24 5 \cdot 10^7$
74	6,48	54,19	6.68	19,74	5,5	33,92	$19,98 \cdot 10^7$

* Летучие кислоты в этом и следующих опытах пересчитаны на уксусную кислоту, так как дополнительные определения показали, что в условиях опыта (pH=6 и ниже) летучие кислоты в основном содержат уксусную кислоту с незначительной примесью муравьиной кислоты.

Таблица 3

Время от начала брожения в часах	pH	Сброжено сахара в мМ/л	Образование (в мМ/л)				Число бактерий в 1 мл
			ацетоина	2,3 бутиленгликоля	летучих кислот	этилового спирта	
0	6,67	0					
16	5,94	48 36	1,92	10,24	15,7	37,3	$15 \cdot 10^7$
20	5 91	52,45	1,98	11,88	13,5	38,26	$20 \cdot 10^7$
24	5,85	53,65	2,3	13 33	12,0	41.1	$19 \cdot 10^7$
29,5	5,66	54,50	3,34	14,9	11,0	44,0	$10 \cdot 10^7$
43	4,96	54,5	4.38	11,23	8,5	39,56	$5.6 \cdot 10^7$
74	6,19	54,5	10,06	5,27	3,5	21,58	$14,4 \cdot 10^7$

Условия брожения аэробные. В опыте, результаты которого сведены в табл. 2, прослежен ход изменений количества продуктов в первые часы брожения (24 часа), когда еще не весь сахар потреблен. Анализы производились через 3; 6,5; 10,5; 14; 27 и 74 часа после заражения.

В табл. 3 представлен опыт, в котором анализы производились через 16; 20; 24; 29,5; 43 и 74 часа, т. е. прослежен ход брожения в момент исчезновения сахара и изменения количеств продуктов брожения после того, как весь сахар был потреблен.

Данные, приведенные в таблицах 2 и 3 и на рисунках 1 и 2, дают возможность судить об изменении соотношения продуктов брожения во времени [1].

Энергичное потребление сахара и быстрый рост числа бактерий в первые часы брожения сопровождаются накоплением летучих кислот и спирта. Однако накопление летучих кислот продолжается недолго, достигает максимума через 10—12 часов, а затем быстро снижается до незначительных величин (в опыте, сведенном в табл. 2, через 10,5 часа количество летучих кислот равно 18,2 мМ/л, а через 74 часа только 5,5 мМ/л; в опыте, сведенном в табл. 3, через 16 часов равно 15,7 мМ/л а через 74 часа 3,5 мМ/л).

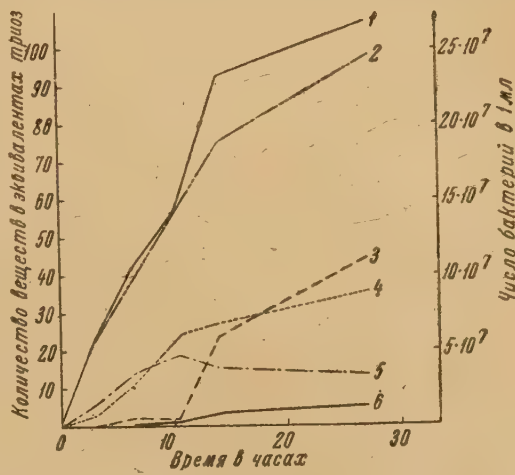

Рис. 1. Динамика брожения глюкозы Aerobacter aerogenes (первые 27 часов брожения). *1* — сброженный сахар; *2* — число бактерий; *3*—2,3-бутиленгликоль; *4* — этиловый спирт; *5* — летучие кислоты; *6* — ацетоин

Уменьшение количества летучих кислот начинается задолго до исчезновения сахара (сахар полностью потребляется бактериями через 29—30 часов, а количество летучих кислет достигает максимума на 10—12-м часу). Ацетоин и 2,3-бутиленгликоль, наоборот, в первые часы брожения совершенно не образуются. Их образование начинается с 5—6 часов и идет вначале сравнительно медленно (за первые 10,5 часа ацетоина образуется всего 0,64 мМ/л, а 2,3-бутиленгликоля — 0,99 мМ/л) (табл. 2 и рис. 1).

На определенном этапе брожения, совпадающем с максимумом образования летучих кислот, происходит резкое увеличение количества ацетоина и 2,3-бутиленгликоля, особенно 2,3-бутиленгликоля, который становится одним из основных продуктов брожения. До исчезновения сахара в среде количества ацетоина, 2,3-бутиленгликоля и спирта возрастают.

2,3-бутиленгликоль и спирт имеют максимум в зоне исчезновения сахара (таблицы 2 и 3 и рисунки 1 и 2). После того, как весь сахар в среде потреблен бактериями, количество ацетоина продолжает возрастать, а количество 2,3-бутиленгликоля, спирта и летучих кислот убывает. Так как количество ацетоина возрастает и после исчезновения сахара, то, очевидно, в ацетоин переходят какие-то другие продукты брожения.

[1] На рисунках 1, 2, 3 продукты брожения и сброженный сахар выражены в эквивалентах триоз, т. е. количества веществ рассчитаны в миллимолях на литр и в случае глюкозы, ацетоина и 2,3-бутиленгликоля умножены на два с тем расчетом, что глюкоза расщепляется на две триозы, а ацетоин и 2,3-бутиленгликоль могут образоваться только из двух триоз.

В опытах, сведенных в таблицах 2 и 3, брожение велось на среде с 1% глюкозы и pH по ходу брожения менялось незначительно, что не дало возможности проследить зависимость изменений соотношения продуктов брожения от активной кислотности среды.

Следующие опыты были поставлены с бо́льшим количеством глюкозы (2%). Кроме ацетоина, 2,3-бутиленгликоля, этилового спирта и

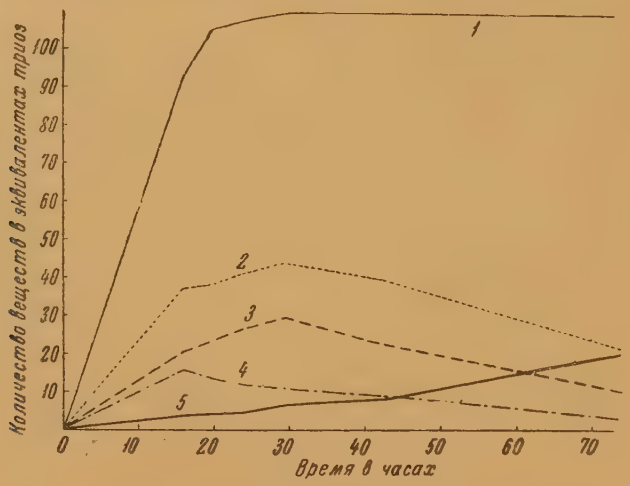

Рис. 2. Динамика брожения глюкозы Aerobacter aerogenes. *1* — сброженный сахар; *2* — этиловый спирт; *3* — 2,3 — бутиленгликоль; *4* — летучие кислоты; *5* — ацетоин

летучих кислот определялась также молочная кислота. Анализы производились через 24; 31,5; 49; 100 и 176 часов после заражения. Результаты сведены в таблице 4 и рисунке 3.

Таблица 4

Время от начала брожения в часах	pH	Сброжено сахара в мМ/л	Образовано (в мМ/л)				
			ацетоина	2,3-бутиленгликоля	летучих кислот	молочной кислоты	этилового спирта
0	5,9	0					
24	5,76	68,35	0,41	2,29	8,55	12,6	32,4
31,5	5,7	—	0,33	3,6	5,61	15 2	—
49	5,2	89,2	1,45	23,8	3,74	22,3	40,1
100	4,6	100,8	5,06	35,7	2,66	37,0	47,53
176	5,04	103,3	8,6	37,8	7,16	25,4	51,34

Приведенные данные полностью согласуются с данными, сведенными в таблицы 2 и 3.

Здесь можно проследить те же закономерности, но, благодаря наличию в среде большего количества глюкозы, pH по ходу брожения меняется резче, что дает возможность связать изменение соотношения продуктов по ходу брожения с активной кислотностью среды.

Кривая изменения pH во времени при брожении глюкозы Aerobacter aerogenes имеет весьма характерный вид: в первые часы брожения среда подкисляется, причем в случае наличия сахара в среде это подкисление идет до pH, равного 4,4—4,6, значения pH, которое является

самым низким, при котором еще возможно развитие данного штамма бактерий (смотри дополнительный опыт, сведенный в табл. 5 и рис. 4).

Таблица 5

Влияние активной кислотности среды на рост Aerobacter aerogenes

pH		Число бактерий в 1 мл	
начальное	конечное	начальное	конечное
4,5*	4,5	$15{,}2 \cdot 10^6$	$10{,}3 \cdot 10^6$
5 0	5,0	$15{,}2 \cdot 10^6$	$13{,}5 \cdot 10^6$
5.5	5,3	$15{,}2 \cdot 10^6$	$17{,}4 \cdot 10^6$
6,3	6,2	$15{,}2 \cdot 10^6$	$20{,}9 \cdot 10^6$
6,5	6,4	$15\ 2 \cdot 10^6$	$27\ 0 \cdot 10^6$
6,8	6,65	$15{,}2 \cdot 10^6$	$24{,}5 \cdot 10^6$
7,0	6 7	$15{,}2 \cdot 10^6$	$18{,}5 \cdot 10^6$
7,5	6,9	$15{,}2 \cdot 10^6$	$15{,}3 \cdot 10^6$
8,0**	7,5	$15{,}2 \cdot 10^6$	$13{,}9 \cdot 10^6$

* При начальном pH, равном 4,5 и ниже, развитие бактерий не начинается вовсе.

** При начальном pH, равном 8,0, после некоторого снижения числа бактерий за счет их автолиза начинается их нормальное брожение.

Дальнейшее накопление кислот (сдвиг pH ниже этого значения) повело бы к отмиранию бактерий и остановке брожения. Однако этого не происходит, так как pH начинает сдвигаться в щелочную сторону, и брожение продолжается. Нетрудно видеть (табл. 4 и рис. 3), что кривая изменения pH противоположна кривой изменения количества молочной кислоты: максимальное количество молочной кислоты совпадает с са-

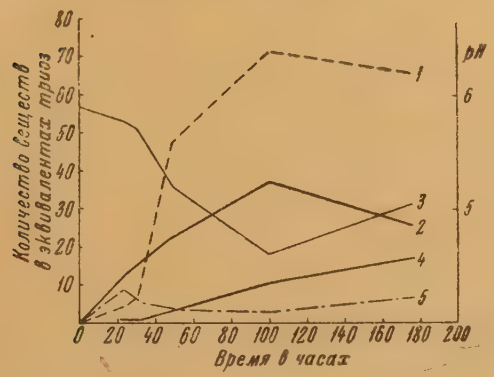

Рис. 3. Динамика брожения глюкозы Aerobacter aerogenes *1*—2, 3-бутиленгликоль; *2* — молочная кислота; *3* — pH; *4* — ацетоин; *5* — летучие кислоты

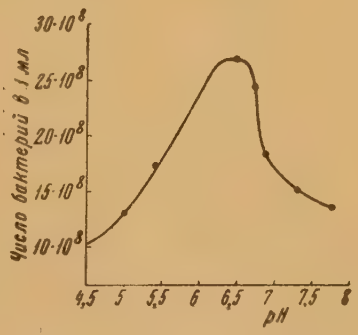

Рис. 4. Влияние активной кислотности среды на рост Aerobacter aerogenes

мым низким значением pH. Следовательно, в изменении pH определяющее значение имеет накопление и потребление молочной кислоты в субстрате.

Количество летучих кислот начинает уменьшаться гораздо раньше, чем pH падает до 4,5—4,6. Это уменьшение начинается уже при pH, равном 6.

Сбраживание молочной кислоты Aerobacter aerogenes

Рассмотрение данных, приведенных в таблицах 2, 3 и 4, убеждает нас, что молочная и уксусная кислоты, а также 2,3-бутиленгликоль не могут считаться окончательными продуктами брожения глюкозы Aerobacter aerogenes.

Все упомянутые продукты при определенных условиях возникают, а при изменении этих условий могут быть использованы бактериями.

Молочную кислоту обычно можно встретить при брожении глюкозы Aerobacter aerogenes, но если pH при брожении падает очень низко (до 4,5—4,6), то молочная кислота потребляется даже в присутствии сахара в среде. В связи с этим было интересно провести брожение на среде с молочной кислотой, но без сахара. Такие опыты были поставлены.

Брожение велось на уже указанной среде с пептоном. В качестве единственного безазотистого соединения углерода в среду добавлялся молочнокислый кальций (1%). Опыты проводились в аэробных и в анаэробных условиях. Параллельно ставился контроль на пептонной среде.

В опыте № 1 анализы производились через двое суток, а в опытах № 2 и 3 — через 6 суток. Результаты сведены в табл. 6.

Таблица 6

Сбраживание молочной кислоты Aerobacter aerogenes в аэробных условиях

№ опыта	Условия опыта	Сброжено молочной к-ты в мМ/л	Образовано (в мМ/л)			Число бактерий в 1 мл
			уксусной к-ты	муравьиной к-ты	этилового спирта	
1	Анаэробные (опыт) . .	8,9	6,6	1,2	0,98	$25{,}4 \cdot 10^7$
	» (контроль)	0	0,65	0	0,15	$9{,}8 \cdot 10^7$
2	Аэробные (опыт) . . .	13,9	8,75	1,32	1,4	—
	» (контроль) . .	0	1,2	1,28	0,7	—
	Анаэробные (опыт) . .	7,1	7,12	0,41	0,5	—
	» (контроль)	0	1,2	1,12	0	—
3	Аэробные (опыт) . . .	17,45	12,05	1,04	0	$47{,}95 \cdot 10^7$
	» (контроль) .	0	1,4	0,95	0	$25.3 \cdot 10^7$
	Анаэробные (опыт) . .	6,9	5,8	1,37	0,5	$28{,}3 \cdot 10^7$
	» (контроль)	0	0,96	0,5	0	$16{,}5 \cdot 10^7$

Исследуемый штамм Aerobacter aerogenes сбраживает молочную кислоту как в аэробных, так и в анаэробных условиях.

Брожение молочной кислоты протекает интенсивнее в аэробных условиях, чем в анаэробных. В аэробных условиях сброжено 13,9 и 17,45 мМ/л молочной кислоты, а в анаэробных соответственно — 7,1 и 6,8 мМ/л.

Молочная кислота в результате брожения превращается главным образом в уксусную кислоту. Кроме того, образуется небольшое количество муравьиной кислоты и этилового спирта. Ни ацетоина, ни 2,3-бутиленгликоля не было обнаружено.

Приведенные данные делают вероятным предположение, что при брожении глюкозы Aerobacter aerogenes молочная кислота превращается в уксусную кислоту. Об этом же свидетельствует некоторое увеличение количества летучих кислот к концу брожения глюкозы, которое мы наблюдали в опыте, приведенном в табл. 4 и рис. 3. Это увеличение ко-

личества летучих кислот сопровождается потреблением молочной кислоты.

Полученным результатам противоречат данные Mickelson и Werkman [12]. Названные авторы не наблюдали уменьшения количества молочной кислоты по ходу брожения глюкозы Aerobacter indologenes. Кроме того, Reynold, Jacobsson и Werkman [15] не наблюдали сбраживания молочнокислого натрия в пептонной среде Aerobacter indologenes

Сбраживание уксусной кислоты Aerobacter aerogenes

Опыты по динамике брожения глюкозы Aerobacter aerogenes показали, что если брожение начинается при pH, оптимальном для образования ацетоина и 2,3-бутиленгликоля, то уксусная кислота накапливается только в первые часы брожения (табл. 2), потом ее количество резко падает, и это падение сопровождается возникновением ацетоина и 2,3-бутиленгликоля. Эти данные, а также известные из литературы факты о том, что уксусная кислота, добавленная к бродящей глюкозе, превращается Aerobacter indologenes и Aerobacter polymyxa в ацетоин и 2,3-бутиленгликоль [15, 16], дают основание предположить, что и исследуемый штамм Aerobacter aerogenes способен превращать уксусную кислоту в ацетоин и 2,3-бутиленгликоль.

В связи с вышесказанным изучение брожения уксусной кислоты в отсутствие глюкозы представляет несомненный интерес.

Были проведены брожения на среде вышеописанного состава, где глюкоза заменялась уксуснокислым кальцием. Условия брожения аэробные и анаэробные. Анализы проводились через 6 суток после заражения. Параллельно ставился контроль на среде с пептоном без уксуснокислого кальция.

Таблица 7

Сбраживание уксусной кислоты Aerobacter aerogenes в аэробных и анаэробных условиях

Условия опыта	Сброжено уксусной к-ты в мМ/л	Образовано (в мМ/л)				Число бактерий в 1 мл
		муравьиной к-ты	этилового спирта	ацетоина	2,3-бутиленгликоля	
Аэробные (опыт) . . .	2,13	1,02	0	0	0	$23{,}5 \cdot 10^7$
» (контроль) . .	0	0,5	0	0	0	$20{,}1 \cdot 10^7$
Анаэробные (опыт) . .	6,43	1,02	0	0	0	$15{,}8 \cdot 10^7$
» (контроль)	0	0	0	0	0	$9{,}9 \cdot 10^7$

Приведенные данные свидетельствуют о том, что уксусная кислота сбраживается Aerobacter aerogenes в пептонной среде без сахара чрезвычайно слабо. Ни ацетоина, ни 2,3-бутиленгликоля обнаружить в культуральной жидкости не удалось.

Это, однако, не значит, что уксусная кислота не может быть превращена Aerobacter aerogenes в ацетоин. Возможно, что неудача подобных опытов объясняется тем, что для превращения уксусной кислоты в ацетоин необходим какой-то акцептор кислорода, который отсутствует в пептонной среде без других безазотистых соединений углерода, кроме уксуснокислого кальция.

В опыте, приведенном в табл. 7, интересно отметить, что уксусная кислота лучше сбраживается Aerobacter aerogenes в анаэробных условиях, в то время как для брожения молочной кислоты более благоприятными являются аэробные условия (табл. 6).

Это обстоятельство, вероятно, свидетельствует о том, что превращения, которые претерпевает уксусная кислота при брожении, связаны с реакциями восстановления. В пользу предположения, что для сбраживания уксусной кислоты необходим какой-то акцептор кислорода, говорит еще и то обстоятельство, что добавление ничтожных количеств сахара в среду с уксуснокислым кальцием заметно стимулирует брожение уксусной кислоты. Была сделана попытка решить вопрос о возможном акцепторе кислорода в процессе превращения уксусной кислоты в ацетоин.

Молочная кислота, как показали проведенные опыты (табл. 6), сбраживается исследуемым штаммом с преимущественным образованием уксусной кислоты и, очевидно, подвергается сначала окислению. Исходя из этого, можно представить себе взаимодействие молочной и уксусной кислот, в котором молочная кислота играла бы роль акцептора кислорода. Это взаимодействие сказалось бы на выходе нейтральных продуктов (ацетоина и 2,3-бутиленгликоля). Брожение ставилось на среде вышеприведенного состава.

В качестве бродильного материала добавлялись или молочнокислый кальций, или уксуснокислый кальций, или тот и другой вместе.

Однако опыты не подтвердили высказанного предположения. Ни ацетоин, ни 2,3-бутиленгликоль при брожении молочной и уксусной кислот не были обнаружены. Следовательно, молочная кислота не может служить акцептором кислорода в процессе восстановления уксусной кислоты в уксусный альдегид и образования из последнего ацетоина и 2,3-бутиленгликоля.

Литературные данные свидетельствуют о том, что и муравьиная кислота не может служить подобным акцептором, Mickelson и Werkman [12] не могли показать сбраживания культурой Aerobacter indologenes уксусной кислоты в ацетоин или 2,3-бутиленгликоль в присутствии муравьиной кислоты.

Таким образом, вопрос об акцепторе кислорода в процессе восстановления уксусной кислоты в ацетоин и 2,3-бутиленгликоль пока еще остается неясным.

В заключение выражаю глубокую и искреннюю благодарность профессору В. Н. Шапошникову за руководство и помощь в работе.

Выводы

1. Изучение динамики брожения глюкозы, вызываемого Aerobacter aerogenes, показало, что кривая pH по ходу брожения имеет характерный вид: брожение начинается с подкисления субстрата, которое доходит до pH, равного 4,6—4,5, после чего происходит перелом кривой кислотности и дальнейшее уменьшение кислотности среды.

2. Брожение глюкозы Aerobacter aerogenes начинается с образования кислот (уксусной и молочной) и этилового спирта, однако, если брожение начинается при pH, равном 6,0—6,3, то уксусная кислота накапливается только в первые часы (10—12 часов) брожения, после чего количество уксусной кислоты начинает уменьшаться и доходит к концу брожения до незначительных величин.

3. Молочная кислота также сначала накапливается в среде, а потом, когда pH падает до pH, равного 4,6—4,5, начинает потребляться бактериями.

4. Ацетоин и 2,3-бутиленгликоль в первые часы брожения (если брожение начинается при pH, равном 6,0—6,3) не образуются вовсе, их интенсивное образование начинается вместе с уменьшением количества уксусной кислоты.

5. Молочная кислота в пептонной среде без глюкозы может сбраживаться Aerobacter aerogenes как в аэробных, так и в анаэробных усло-

виях, причем брожение протекает энергичнее в аэробных условиях. И в аэробных и в анаэробных условиях Aerobacter aerogenes превращает молочную кислоту, главным образом в уксусную кислоту. Ни ацетоина, ни 2,3-бутиленгликоля обнаружено не было.

6. Уксусная кислота в пептонной среде без сахара сбраживается чрезвычайно слабо. Ни ацетоина, ни 2,3-бутиленгликоля не образуется.

Кафедра микробиологии
Московского государственного
университета им. Ломоносова

Получено 6.II.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Горовиц-Власова Л. М. и Родионова Е. А. Über die Azetoingärung. Ctbl. Bakt., II, 87, 333, 1933.
2. Дудыкина Н. В. Получение 2,3-бутиленгликоля брожением. Диссертация. Институт ботаники МГУ, 1947.
3. Дудыкина Н. В. Бутиленгликоль и его образование в процессах брожения. Микробиология, XVIII, 181, 1949.
4. Первозванский В. В. и Шапиро Л. М. Получение 2,3-бутиленгликоля путем брожения. Сб. работ Научно-иссл. ин-та пищевой промышленности. БССР, № 9, стр. 14, 1941.
5. Brockman M. C. and Werkman C. H. Determination of 2,3-butylene glycol in fermentations. Ind. Eng. Chem., **5**, 206, 1933.
6. Grimbert M. L. Production d'acétyl-méthylcarbinol par le Bacillus tartricus. C. R., **132**, 706, 1901.
7. Jonson M. J. Determination of 2,3-butylene glycol in fermentations. Ind. Eng. Chem., **16**, 626, 1944.
8. Kling M. A. Sur les alcools cetoniques en C_4. Bull. Soc. Chim. **35**, 209, 1906.
9. Langlykke A. F., Peterson W. H. Determination of acetyl-methylcarbinol. Ind. Eng. Chem., **9**, 163, 1937.
10. Lemoigne M. Fermentation butyleneglycolique du lactate de calcium par les bactéries du groupe du B. subtilis. C. R., **177**, 652, 1923.
11. Matignon C., Moureu H., Dode M. Sur le dosage du butanediol 2,3. Bull. Soc. Chim., 5 série, **1**, 1411, 1934.
12. Mickelson M., Werkman C. H. Influence of pH on the dissimilation of glucose by Aerobacter indologenes. J. Bact., **36**, 67, 1938.
13. van Niel C. B. Notiz über die quantitive Bestimmung von Diacetyl und Acetylmethylcarbinol. Biochem. Z., **187**, 472, 1927.
14. Osburn O. L., Wood H. G., Werkman C. H. Determination of Formic Acetic and Propionic acids in a Mixture. Ind. Eng. Chem. An. Ed., **5**, 247, 1933.
15. Reynold H., Jacobsson B. J., Werkman C. H. The dissimilation of organic acids by Aerobacter indologenes. J. Bact., **34**, 15, 1937.
16. Stahly G. L., Werkman C. H. Origin and relationship of acetyl-methylcarbinol to 2,3-butylene glycol in bacterial fermentations. Biochem. J., **36**, 575, 1942.

GALLIONELLA KLJASMIENSIS (sp. n.) КАК КОМПОНЕНТ БАКТЕРИАЛЬНОГО ПЛАНКТОНА

А. С. Разумов

Количество микробов, обнаруживаемое в естественных водоемах непосредственным микроскопированием, весьма велико [2]. Так, в Клязьминском водохранилище системы канала им. Москвы бактериальный планктон (Холодный [4] предложил так называть этот биоценоз водоемов) исчисляется сотнями тысяч и даже миллионами микробов в 1 мл воды [3].

Однако до сего времени наши сведения о качественном составе этого микронаселения воды крайне скудны.

Сапрофитные бактерии, физиология и систематическое положение которых довольно хорошо изучены, составляют в этом водоеме при учете на стандартном мясопептонном агаре всего 0,1 и даже 0,01% от того числа микробов, которое может быть обнаружено микроскопическим наблюдением. Бактерии, разлагающие пептон, денитрификаторы, нитрификаторы и некоторые другие физиологические группы бактерий находятся здесь в количествах того же порядка.

Мертвые клетки составляют обычно в этом водохранилище 10—15% всего количества бактериального планктона.

Все это показывает, что подавляющая масса бактериального планктона состоит из микроорганизмов, принадлежащих к каким-то своеобразным физиологическим группам.

Некоторым подходом, весьма несовершенным, к решению задачи выяснения качественного состава микрофлоры воды является раздельный учет микробов по более или менее легкоразличимым морфологическим группам (крупные и мелкие кокки, разного рода палочковидные клетки, зооглеи, нитчатые формы и т. п.).

Есть основания полагать, что в составе бактериального планктона заметную роль играют микроорганизмы, близкие к зеленым и синезеленым водорослям (хлоробактерии), которые нередко встречаются в мелких водоемах и в донных отложениях в значительных количествах.

Существенную помощь при изучении микронаселения воды может оказать использование микрохимических приемов (окраска по Граму, реакции на отложения железа, марганца, кальция и др.), наблюдения за сезонными изменениями количества изучаемых компонентов бактериального планктона в зависимости от изменений химических и физических свойств воды, и, наконец, изучение их в чистых культурах, что, к сожалению, в настоящее время еще сопряжено со значительными методическими затруднениями.

Одним из эпизодов работы по выяснению качественного состава микрофлоры воды и составляет содержание этого сообщения.

Описание нового планктонного микроорганизма

В пробах воды из Клязьминского водохранилища летом в заметных количествах встречается своеобразный колониальный микроорганизм (рисунок 1).

Колония имеет в очертании форму круга или шара, что трудно установить, так как бактериальный планктон приходится наблюдать в виде

осадка, остающегося на мембранных ультрафильтрах после пропускания через них намеченных объемов воды.

Колонии имеют диаметр в пределах 8—20 μ и состоят из очень тонких стебельков, иногда разветвляющихся. Ветвление стебельков встречается довольно редко. Наблюдаются ветви лишь первого и второго порядков. На концах стебельков сидят одиночные, очень мелкие шарообразные клеточки, диаметр которых находится в пределах 0,3—0,5 μ. В препаратах, окрашенных карболовым эритрозином, протоплазма некоторых клеточек оказывается сосредоточенной у свободного конца, а часть, прилежащая к стебельку, остается бесцветной. В этом случае они напоминают почковидные клетки железобактерий из рода Gallionella [4].

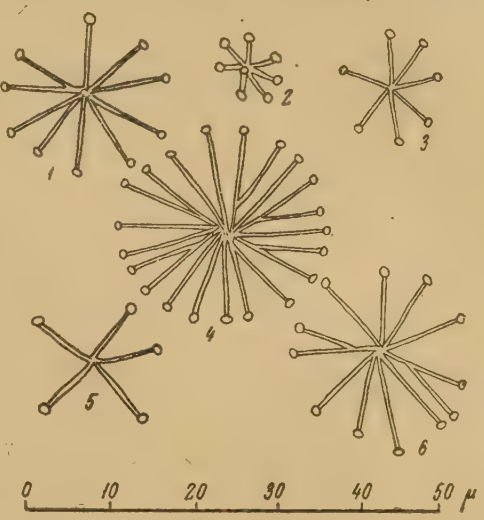

Рис. 1. *1, 3, 4* и *6* колонии Gall. Kljasmiensis из поверхностных проб; *2* и *5* — то же из придонных проб воды

Обработка мембранных фильтров с осадком бактериального планктона раствором желтой кровяной соли (3—5%) и разбавленной соляной кислотой (5%) с последующей окраской эритрозином показывает, что, стебельки всегда более или менее сильно пропитаны отложениями окисного железа.

Эритрозин стебельков не окрашивает, и потому указанная микрохимическая реакция является надежным приемом обнаружения этого организма в бактериальном планктоне. Число клеток в колониях непостоянное и достигает иногда 50.

В придонных пробах колонии имеют более грубый вид с искривленными стебельками, частично или полностью лишенные клеток, с более обильными отложениями железа. Колонии из поверхностных проб воды обычно дают едва уловимую реакцию на железо.

Приведенные в табл. 1 сведения позволяют в некоторой мере выяснить физиологические и экологические особенности этого организма.

1. Он встречался в 1947 и 1948 гг. в восточной части Клязьминского водохранилища во всех пунктах, где велись стационарные наблюдения (у дер. Чиверево, у дер. Сорокино, у с. Осташково и у Пироговской плотины), а также в канале им. Москвы (у дер. Новосильцево). Весьма вероятно, что он встречается и в других частях водохранилища и в водоемах этой системы.

2. Наибольшее количество его наблюдается летом (в июле — сентябре) при температуре воды 14—23°, когда pH находится в пределах 7,0—8,5, окисляемость — 7,0—10,0 мг/л O_2, при высоком содержании растворенного кислорода. В придонных слоях он может встречаться и при 0,7 мг/л кислорода.

3. Можно отметить прямую зависимость количества его от содержания в воде железа. В пробе, полученной Драчевым прибором, изолирующим участок дна, после длительного пребывания прибора в водоеме организм этот был найден при содержании железа в количестве 1 мг/л.

4. Число его клеток составляет от 0,22 до 6,3% от всего числа микробов бактериального планктона, т. е. значительно превосходит число сапрофитных и других учитывавшихся групп водных бактерий.

Таблица

Условия обитания Gallionella kljasmiensis и ее количество в составе бактериального планктона Клязьминского водохранилища

Пункты отбора проб	Дата	Физико-химические показатели **							Количество Gallionella (в 1 мл)			
		T°	pH	Окисляемость (мг/л O_2)	Кислород (мг/л)	Железо (общее) (мг/л)	Бактериальный планктон (тыс. в 1 мл)*	Число сапрофитных бактерий (в 1 мл)*	колоний	клеток	среднее число клеток в колониях	число клеток от общего числа микробов в %
	1947											
У дер. Сорокино, поверхность	22.VII	21,5	8,2	7,42	8,43	0,07	1 671,0	—	497	9 894	20	0,59
То же	8.VIII	23,0	8,2	9,76	12,00	0,02	643,9	—	148	2 970	20	0,46
»	26.VIII	18,5	8,2	9,60	8,86	0,04	1 219,3	111	297	3 300	11	0,27
У дер. Сорокино, на глубине 6 м	26.VIII	18,5	7,6	8,64	6,90	0,07	849,4	187	825	18 150	22	2,13
У Пироговской плотины, поверхность	5.VIII	20,0	8.2	7,77	8,87	0,01	835,7	70	396	4 950	12	0,59
У Пироговской плотины, на глубине 11,5 м	5.VIII	13,9	7,4	7,04	0,69	0,24	712,4	277	824	8 080	10	1,12
У Пироговской плотины, поверхность	20.VIII	18,3	8,1	8,16	8,97	0,11	1 191,9	98	7 270	75 570	10	6,34
У дер. Чиверево, поверхность	28.VIII	19,1	7,9	9,12	7,87	0.06	1 143,9	142	297	2 473	8	0,22
То же	9.VIII	22,0	8,5	10,40	10,34	0,02	1 130,3	68	198	3 300	17	0,29
»	2.IX	17,0	7,9	3,32	8,59	0,10	822,0	75	825	4 500	5	0,55
	1948											
У с. Осташково, поверхность	28.VIII	15,8	7,3	7,52	7,01	0,20	1 741,0	—	13 300	79 800	6	4,6
У с. Осташково, у дна (6 м)	13.IX	—	7,2	—	0,70	1,00	190,0	—	421	3 408	8	1,8

* Подсчеты производились Л. Е. Корш.
** Химические определения производились А. И. Изъюровой и О. В. Митягиной.

Систематическое положение

В составе бактериального планктона имеется, повидимому, немало организмов, имеющих размеры, соизмеримые с размерами, обычными для бактериальных клеток, снабженных пигментами типа хлорофилла (хлоробактерии). Однако вертикальное распределение этого организма не дает оснований полагать, что он обладает способностью к фотосинтезу. Правда, малые размеры клеток, составляющих колонии, и необходимость пользоваться окрашиванием препаратов исключают возможность непосредственного наблюдения пигментации, если бы даже она и имелась.

Все это, а также способность жить при полном отсутствии света и лишь внешнее сходство с колониальной планктонной водорослью Dictyosphaerium, показывает, что имеется достаточно оснований для отнесения этого организма к классу бактерий.

Пользуясь только морфологическими признаками в системе бактерий, принятой в определителе Берджи [5], эту бактерию следует отнести к порядку Caulobacteriales и в нем к роду Gallionella — единственному в сем. Gallionellaceae.

Ключ для определения видов в этом роде со включением описываемой бактерии может быть представлен в следующем виде:

I. Клетки почковидной формы

A. Стебельки — спирально закрученные ленточки

1. Клетки маленькие. Стебельки тонкие

1) Gallionella ferruginea (Ehrenberg)

2. Клетки более крупные. Стебельки более широкие

2) Gallionella major (Cholodny)

B. Стебельки толстые. Спиральная закрученность их выражена слабо

3) Gallionella minor (Cholodny)

II. Клетки овальные или круглые

1. Стебельки, не ветвящиеся. Колонии прикрепляются к субстрату

4) Gallionella corneola (Dorff)

2. Стебельки иногда ветвятся. Колонии, не прикрепляющиеся. Организм планктонный

5) Gallionella kljasmiensis (sp. nova)

Новая бактерия наиболее близка по морфологическим признакам к описанной Dorff Gall. corneola, которая имеет клетки овальные, более крупные ($0{,}5 \times 2{,}5$—$3{,}0$ μ), стебельки тонкие у основания, расширяющиеся у места прикрепления клеток, и которая является перифитонным организмом. Существенные различия описываемой бактерии от других представителей этого рода можно признать достаточным основанием для установления нового вида в составе рода Gallionella.

В системе бактерий, разработанной Красильниковым [1], эта бактерия должна быть помещена в сем. Ferribacteriaceae порядка Ferribacteriales.

Возможно, что физиологические свойства этой бактерии существенно не отличаются от таковых, присущих прочим представителям рода Gallionella, в частности сюда относится способность отлагать железо в студенистых стебельках колоний.

Отсутствие прямой зависимости количества этой бактерии в водоеме от величины окисляемости воды (таблица), а также от числа бактерий, учитываемых на стандартном мясопептонном агаре, показывают, что физиологические свойства ее существенно отличны от тех, которыми характеризуются типичные сапрофитные бактерии.

Этих косвенных соображений, конечно, недостаточно для того, чтобы признать новую бактерию облигатно-автотрофным организмом. Как участвующая в превращениях железа в водоемах, эта бактерия, конечно, может быть отнесена к физиологической группе железобактерий.

В заключение приношу благодарность Л. Е. Корш, а также С. М. Драчеву, А. И. Изъюровой и О. В. Митягиной.

Выводы

Диагноз Gallionella Kljasmiensis (sp. nova)

Клетки круглые, очень мелкие (0,3—0,5 μ), прикрепляющиеся к концам стебельков, имеющих поперечник, меньший диаметра клеток. Стебельки студенистые, обычно прозрачные, пропитывающиеся окисным железом. Стебельки выходят из одной точки, что ведет к образованию дисковидных или шаровидных (?) колоний, диаметр которых находится в пределах 8—20 μ и которые состоят из 6—50 клеток.

Организм ведет планктонный образ жизни и наблюдался в количестве до 8000 колоний в 1 мл воды.

Найден в Клязьминском водохранилище системы канала им. Москвы в составе бактериального планктона во всей толще воды до дна (до 11,5 м).

Отдел санитарной бактериологии
Института общей и коммунальной
гигиены Академии медицинских
наук СССР
Москва

Получено 4.III.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Красильников Н. А. О классификации бактерий. Микробиология, XVII, 2, 1948.
2. Разумов А. С. Новые методы и пути качественного и количественного изучения микрофлоры воды. Микробиология, II, 345, 1933.
3. Разумов А. С. и Захарова (Корш) Л. Е. Бактериальный планктон Клязьминского водохранилища. В сб. Загрязнение и самоочищение водоемов. Изд. Ак. мед. наук СССР, стр. 160, 1948.
4. Холодный Н. Die Eisenbakterien. Jena, 1934.
5. Bergey's manual of determinative bacteriology, V Ed., Baltimore, 888, 1939.
6. Dorff P. Die Eisenorganismen, Pflanzenforschung. H. 16, 25, 1934.

МИКОРИЗА ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ И ЕЕ ЗНАЧЕНИЕ ПРИ ПОЛЕЗАЩИТНЫХ ЛЕСОНАСАЖДЕНИЯХ

(Обзор)

Е. Н. Мишустин и *О. И. Пушкинская*

В текущем году в степных и лесостепных районах Европейской части СССР по постановлению Совета Министров СССР и Центрального Комитета ВКП(б) приступлено к планомерному и широкому внедрению системы агрономических мероприятий, основанной на учении виднейших русских агрономов — Докучаева, Костычева и Вильямса.

Советскому народу предстоит переделать природу наиболее плодородных районов его Родины и избавить высеваемые здесь сельскохозяйственные культуры от часто повторяющихся засух и суховеев.

Вводимая система земледелия как одно из основных мероприятий включает посадку защитных лесных полос на водоразделах, по границам полей севооборотов, по склонам балок и оврагов, по берегам рек и озер, вокруг прудов и водоемов, а также облесение и закрепление песков.

Отсюда становится понятным значение обобщения опыта по анализу условий, благоприятствующих лесонасаждению. Это должно сочетаться с выяснением ряда еще слабо изученных, но существенных для сельского хозяйства вопросов. Аналогичная задача стоит и перед советскими микробиологами, плодотворно связавшими свою деятельность с запросами практики.

В настоящем обзоре мы ставим перед собой задачу осветить вопрос о роли микробиологического фактора в развитии лесонасаждений и отметить как имеющиеся в данной области достижения, так и подлежащие проработке вопросы. В значительной мере это связывается с проблемой образования микоризы у древесных пород.

Микориза у высших растений

Существование тесных взаимоотношений между некоторыми грибами и высшими растениями известно достаточно давно. Более ста лет назад были сделаны первые наблюдения, показавшие наличие грибного мицелия на корневой системе различных растений. Так, Meyen еще в 1829 г. отметил вздутия на корнях ольхи и предположил, что они образуются грибами. Позднее выяснилось, что данные образования формируются под влиянием воздействия актиномицетов.

В 1849 г. Schleiden установил развитие мицелия на корнях гнездовки (Neottia nidusavis). Почти одновременно с ним Reissek пытался выделить грибы из корней различных растений, но безуспешно. Подобных наблюдений, имевших натуралистический характер, но по существу не уточнявших взаимоотношения между грибами и высшими растениями, можно перечислить достаточное количество. Пожалуй, стоит лишь еще отметить работу Gasperini (1856), указавшего на наличие грибов у корневой системы лесных пород.

Крупную веху в развитии учения о микоризе составили работы профессора Одесского (бывшего Новороссийского) университета Каменского (1881), изучившего анатомическое строение корней подъельника (Monotropa hypopitis). Каменский установил тот факт, что корни этого растения, в особенности окончания их, покрыты толстым слоем грибного мице-

лия. Сильно сплетенные гифы так плотно прилегают к эпидермису корней, что последние не могут непосредственно соприкасаться с землей. На основании своих наблюдений Каменский заключил о возможности симбиотических отношений между грибом и корневой системой высших растений.

Оказалось, что подъельник в полевых условиях не развивается из семян в отсутствие гриба. Каменский, таким образом, доказал, что это растение является микотрофом и что существовавший до него взгляд на подъельник как растение, паразитирующее на корнях ели, не соответствует действительности. По красочному сравнению Курсанова, подъельник как бы паразитирует на своем грибе.

Известный русский ботаник Воронин (1886) высказал мысль об облигатной связи некоторых шляпных грибов с определенными лесными породами. Он допускал, что густо разветвленный в почве мицелий гриба, находясь в симбиотическом отношении с растением, внедряется в его корень и способствует снабжению деревьев влагой и минеральными веществами.

Одновременно с исследованиями Воронина появились работы Frank, который описал наличие грибного мицелия на активной корневой системе дуба, бука, березы, хвойных и других древесных растений. Сложный комплекс, образованный корневой системой и грибом, Франк назвал микоризой, что в буквальном переводе значит «грибной корень» (μύκος — гриб, ῥίζα — корень). Позднее это понятие было расширено и распространено на ризомы лишайников, ризоиды мхов и проталлы папоротников. За границей обычно считают Франка основоположником научного изучения микоризы, что, как мы видим, является ошибкой.

В конце прошлого столетия крупные работы по микоризе орхидей были выполнены русским ученым Варлихом [1], который изучил до 500 видов данного растения. Он установил, что корни орхидей, независимо от образа их жизни, пронизаны мицелием гриба. Исследования Варлиха позволили позднее французскому исследователю Bernard углубить вопрос о роли грибов в развитии орхидей и дать ценные для практики выводы.

В начале текущего столетия стройную теорию о роли микоризных образований в жизни растений, в том числе древесных, развил Вильямс. К этому же периоду времени относятся наблюдения Высоцкого (1902), обратившего внимание на тот знаменательный факт, что сеянцы дуба и сосны хорошо развиваются и нормально приживаются при пересадке лишь в том случае, если на корнях имеется микориза. Никитинский (1902) высказал ряд соображений о возможной роли микоризы в жизни высших растений.

Значительное внимание микоризе и микотрофному питанию уделил Комаров (1915), давший ряд интересных соображений о взаимоотношении гриба и высшего растения.

Из работ, выполненных в Советском Союзе, мы отметим исследования Ганешина (1923) по микоризе сосны, ели и лиственницы. Позднее появились исследования Адамовича (1929—1932 гг.) и Баранея (1933—1939), посвященные микоризе дуба, Клечетова (1947) о грибах корневой системы каучуконосов и других растений, Дороховой (1947), подтвердившей высказанные ранее предположения о наличии микоризы у различных пшениц, и, наконец, интересные исследования Лобанова (1946—1949), который в результате трехгодичных работ в Брянском лесохозяйственном институте установил широкое распространение грибов на корнях древесных пород. Микориза была найдена у сосны, ели, лиственницы, березы, дуба, рябины и других деревьев.

[1] Цитировано по работе Б. Л. Исаченко «Новое в биологии и культуре орхидей».

Значительный опыт по практическому использованию микоризных грибов имеет Всесоюзный институт агролесомелиорации (Присяжнюк) [1].

Ценные сведения о грибах микоризы можно найти в курсах микологии Ячевского (1933) и Курсанова (1940).

В последнее время Лысенко в ряде выступлений подчеркнул значение вопроса о микоризе.

Следует указать, что за рубежом также были выполнены исследования, заслуживающие внимания. Можно ограничиться хотя бы упоминанием работ Hatch (1936—1937), Melin (1921—1939), Bjorkman (1942), Modess (1946), Rayner (1937—1946).

Совокупность полученных данных позволяет заключить, что микоризы очень широко распространены среди самых разнообразных групп высших растений как семенных, так и архегониальных. Они обнаруживаются у растений Арктики, среднего и южного поясов, а также троликов. Asai (1935), интересовавшийся распространением микоризных растений, не нашел их лишь у водной флоры. Растительность же кратеров вулканов, дюн и коралловых островов имела на корнях микоризные образования. Число известных к настоящему времени видов высших растений, живущих в симбиозе с грибами, достигает двух тысяч.

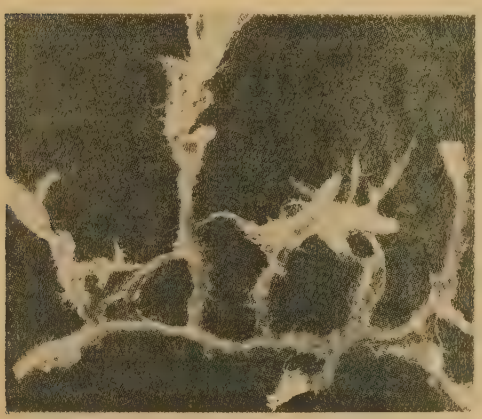

Рис. 1. Микориза на корнях Punis silvestris, образованная Scleroderma aurantium (по Modess)

Рис. 2. Внешний вид микоризы дуба

Более подробное изложение работ, связанных с изучением микоризы у древесных растений, можно найти в статьях Лобанова, к которым мы и отсылаем читателей, желающих глубже изучить разбираемый вопрос.

Внешний вид и внутренняя структура микориз могут сильно варьировать. В настоящее время различают эктотрофную, эндотрофную микоризы, переходную (экто-эндотрофную) микоризу и, наконец, некоторые авторы говорят еще о так называемой перитрофной микоризе.

Между только что отмеченными типами микоризы могут быть всевозможные переходы. Иногда в природе встречаются псевдомикоризные образования, которые исследователю следует отличать от настоящей микоризы.

Давая краткое описание типичным микоризам, отметим, что эктотрофная микориза отличается по своему характерному внешнему виду. В данном случае корень окутывается достаточно плотно грибным чехлом, от которого во все стороны распространяется довольно густая сеть гиф (рис. 1—2).

[1] Устное сообщение.

При эктотрофной микоризе грибные гифы проникают в корень на небольшую глубину, ограничиваясь преимущественно межклетниками экзодермы, где гифы, переплетаясь, образуют густую сеть, названную Гартиговской, по имени автора, ее обнаружившего (Hartig, 1886). Развитие сети Гартига может существенно меняться в зависимости от возраста и строения микоризы. При наличии эктотрофной микоризы очень часто плотный грибной чехол так окутывает окончание корней, что корневые волоски исчезают. Поглощение воды и питательных материалов из почвы в таком случае осуществляется при помощи мицелия грибов.

Наружный слой клеток коры корня подвергается обычно более или менее полному разрушению. Под грибным чехлом располагается слой клеток, богатых дубильными веществами. По наблюдениям, сделанным Ивановым (1916), главные окончания корней (ростовые окончания) иммунны по отношению к грибу и не образуют микоризы. Рост их в длину продолжается все лето, и это обеспечивает охват корневой системой все большего и большего объема почвы.

Отмеченное обстоятельство связано с тем, что ростовые корни быстро пробковеют, оставляя в первичном строении только утолщенное окончание. Они теряют первичную кору и прекращают всасывать воду и питательные вещества. В отличие от ростовых корней сосущие окончания длительное время сохраняют свое первичное строение и имеют в эндодерме многочисленные пропускные клетки. Это позволяет им выполнять поглощающую функцию.

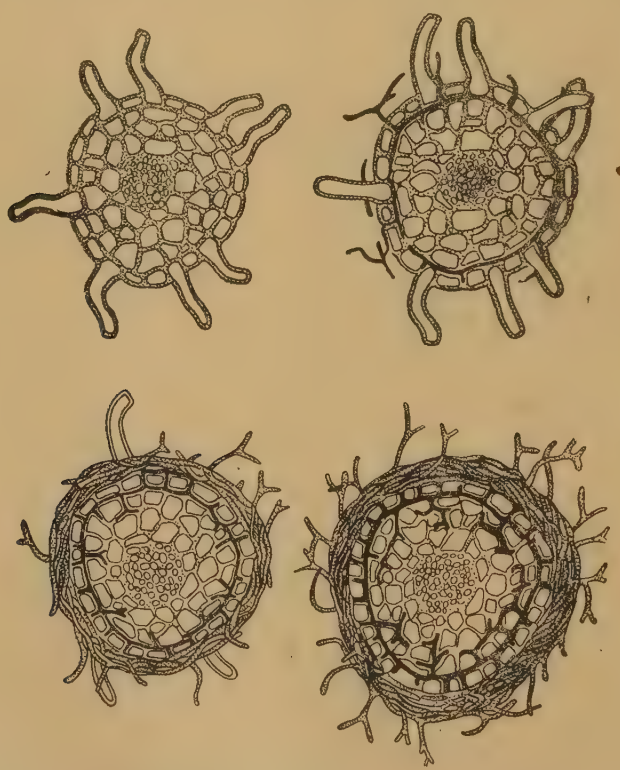

Рис. 3. Схема формирования микоризного чехла вокруг корня рябины. Видны: типичное строение корня с корневыми волосками, постепенное образование сети Гартига и микоризного чехла, а также редукция корневых волосков. (по Лобанову).

Следует подчеркнуть, что эктотрофная микориза является однолетним образованием и каждый год возобновляется. В некоторые периоды года по внешнему осмотру она устанавливается с трудом (см. ниже).

Формирование эктотрофной микоризы понятно из рис. 3. У одного и того же растения структура микоризы может довольно сильно различаться.

Отмеченные отличия в отдельных случаях зависят как от того, что микоризы могут формироваться под влиянием различных грибов, так и от того, что взаимоотношения между корнем и грибом не всегда складываются тождественно.

Отмечается, что эктотрофная микориза может различаться по цвету мицелиального чехла. В зависимости главным образом от вида гриба, окраска гиф бывает беловатой, серой, розовой, голубой, бурой, черной и других тонов. По состоянию поверхности микоризного чехла различают следующие типы микоризы: микоризу с войлочной поверхностью, волосистую или щетинистую, совершенно гладкую.

Бьоркман рекомендует пользоваться особой классификацией микориз, кладя в основу предлагаемой систематики толщину мицелиального чехла, глубину проникновения гиф в корень и цвет грибных гиф.

В заключение описания эктотрофной микоризы надо указать, что она обычно свойственна древесной растительности и поэтому в настоящее время представляет для нас наибольший интерес.

Для эндотрофной микоризы характерно, то, что мицелий проникает, как правило, в клетки коровой паренхимы корня. Данные клетки остаются жизнеспособными и переваривают внедрившийся в них мицелий. Особенно заметно этот процесс происходит в более глубоко расположенных коровых клетках. Как указывает Курсанов, он весьма напоминает фагоцитоз у животных. В пораженных грибом клетках нередко образуются густые клубки гиф или разветвления мицелия.

Следует подчеркнуть, что при эндотрофной микоризе гриб не распространяется далее корового слоя корня. Лишь паразитные грибы затрагивают центральный цилиндр. Конечно, помимо того, что мицелий находится внутри клеток, он поселяется также между ними. Гифы могут в незначительном числе выходить из корня и связывать эндотрофный мицелий с почвой. Такие гифы называются эмиссионными.

При наличии эндотрофной микоризы корневые волоски всегда сохраняются. Эндотрофная микориза распространена у орхидных и вересковых растений, многолетних трав и т. д.

Как мы уже отмечали, между экто- и эндотрофными микоризами имеется переход (эндо- — эктотрофная микориза). Некоторые исследователи, как, например, Мелин, считают, что нет абсолютной эктотрофной микоризы. Он указывает, что у сосны, ели и особенно лиственницы гифы гриба проникают внутрь клеток, где образуют интрацеллюлярные гифы с гаусториями. Это хорошо иллюстрирует рис. 4, взятый из книги Курсанова. По представлениям Мелина, микориза в первой стадии ее развития всегда эндотрофна.

Лобанов также причисляет микоризу древесных пород к эндо- — эктотрофной. Он подчеркивает, что грибы, образующие микоризу, не проникают в центральный цилиндр, и если микроскопическая картина свидетельствует о подобном факте, то налицо имеется паразитизм.

Совершенно очевидно, что лишь дальнейшая работа может уточнить механизм образования микоризы разного типа.

По характеру образующихся разрастаний Burgeff различает эндотрофную микоризу следующих типов: а) клубневидной, 2) коралловидной, 3) спонгиальной формы.

В 1934—1936 гг. Jahn описал перитрофную микоризу. В данном случае грибы не вступают с растением в тесную связь, но, поселяясь в большом количестве в ризосфере, окутывают корень перитрофным чехлом. Без сомнения, и такая форма сожительства имеет большое значение для жизни растения, создавая вокруг его корня специфическую среду.

У деревьев могут быть обнаружены так называемые псевдомикори-

зы — образования, лишь внешне напоминающие типичную микоризу. В таких случаях имеются факты явно паразитарного отношения гриба к растению-хозяину.

Как отмечает Райнер, грибной чехол у псевдомикоризы имеет все же атипичное строение. Слой клеток коры, расположенных под грибным чехлом, не содержит дубильных веществ. Мицелий гриба, образующего

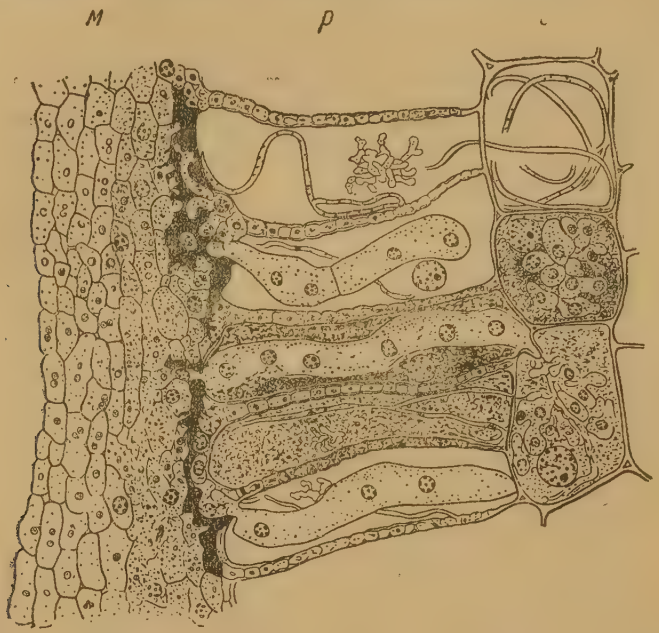

Рис. 4. Продольный разрез через эктотрофную микоризу березы (по Курсанову): *м* — мицелиальный чехол; *р* — межклеточный и внутриклеточный мицелий в палисадном слое клеток эпидермиса; *d* — субэпидермис с внутриклеточными гифами

псевдомикоризу, проникает в центральный цилиндр, не дает сети Гартига и при внедрении в клетки корня не подвергается там перевариванию (Мелин).

Псевдомикоризы, конечно, ничего, кроме вреда, растению причинить не могут. Они формируются под влиянием специфических грибов. Однако Райнер высказывает мысль, что при известной обстановке типичные грибы-микоризообразователи могут переходить к паразитарному образу жизни. Псевдомикориза с уверенностью может быть отличима от типичной микоризы лишь при микроскопическом анализе.

По данным Лобанова, микориза не всегда одинаково легко распознается при исследовании корней растений. Его работа с древесными породами показала, что имеющаяся у них эктотрофная микориза пышнее разрастается летом. Нередко весной и осенью молодые корни пробивают чехол и благодаря этому создается впечатление безмикоризного развития у растения. Не исключена возможность, что осенью и зимой значительная часть грибного мицелия, окружающего корень, как уже отмечалось, отмирает, а с наступлением теплой погоды развивается вновь. У сеянцев микориза лучше всего выявляется поздно летом или осенью.

По отношению растений к грибам, образующим с корнем эктотрофную микоризу, Лобанов делит их на следующие 4 группы:

1. Облигатно микотрофные растения — не развивающиеся без гриба. Сюда должны быть причислены немногочисленные травянистые растения, вроде подъельника.

2. Растения с сильно выраженной микотрофией. К этой группе относятся некоторые древесные породы, как, например, дуб, граб, бук, хвойные и т. д.

3. Растения, развивающиеся без микоризы. Сюда, очевидно, из древесных и кустарниковых растений должны быть отнесены бересклет, акация, плодовые деревья, лавровишня и инжир.

4. Растения переходного характера между 2-м и 3-м типами.

Они могут достаточно хорошо развиваться без микоризы, но иногда образуют и последнюю. Почти все кустарники относятся к последнему типу. Сюда же должны быть причислены липа, береза и ильмовые растения. По всей видимости, образование микоризы приносит данным растениям пользу.

Заслуживает внимания тот факт, что микориза имеет весьма древнее происхождение. Она установлена палеонтологами у растений палеозойской эры, в девонских и каменноугольных отложениях (Комаров, Криштофович).

Таким образом, в данном сожительстве отражаются в течение весьма длительного времени сложившиеся взаимоотношения между высшими и низшими организмами.

Условия, способствующие образованию микоризы у растений

Образование микоризы становится возможным, если в почве имеется соответствующий возбудитель из грибов. Ряд советских ученых (Высоцкий, Бараней и др.) отмечают, что грибы, образующие с корневой системой микоризу, встречаются в почве далеко не всегда. Например, в безлесной степи отсутствуют грибы, вызывающие формирование микоризы у дуба. Поэтому на таких почвах растения не образуют микоризы и постепенно отмирают. Там же, где дуб культивируется долго, микориза наблюдается на всех корнях дуба.

Только что отмеченную точку зрения, подтвержденную практикой, мы считаем необходимым привести, так как некоторые американские исследователи (Wilde, 1946) полагают, что интересующие нас виды грибов имеют повсеместное распространение. Они утверждают, что грибы, дающие микоризу, могут быть найдены на таких почвах, где лес не произрастал даже в течение 60 лет.

Однако не только наличие грибов в почве определяет образование микоризы. Для этого нужны и другие условия. Прежде всего, очевидно, большое значение имеет вирулентность грибов и наличие в почве определенных запасов органического вещества, необходимого для их развития. Этим следует объяснить факт наиболее сильного заражения корней деревьев микоризными грибами в верхнем слое почвы. Особенно обильно микориза образуется в слое полуперепревшей подстилки, граничащей с почвой.

Поэтому же отмечается усиленное образование корневой системой микоризы при удобрении почвы компостами и другими органическими удобрениями (Ахромейко, Райнер, Бьоркман и др.).

Более слабо развитая микориза обнаруживается у деревьев в довольно глубоких слоях почвы. Endrigkeit (1939) находил ее на глубине до 1 м, Лобанов — до 1,5 м, а Бараней — на несколько меньшей глубине (до 50 см).

Таблица 1, заимствованная из статьи Баранея, показывает интенсивность образования микоризы у сеянцев дуба, проросших на разных почвах. Она подтверждает, что на смытых, бедных органическим веществом почвах микориза формируется плохо. Очевидно, для гриба необходим известный запас питательных веществ в почве.

Большое значение разных форм органического вещества, имеющегося в почве, на образование микориз показала Райнер, работавшая с бедны-

ми песчаными почвами. Внесение в подобные почвы клетчатки депрессировало формирование микориз и приводило к развитию псевдомикориз. Совершенно противоположно действовали компосты. При их использовании не только усиливалось микоризообразование, но и состав грибов-микоризообразователей делался более богатым.

Таблица 1

Образование микоризы у сеянцев дуба, развивавшихся на разных почвах

Почва	% сеянцев с микоризой	pH почвы
Наносная	84	5,8
Смытая	11	6,8
Не подвергавшаяся эрозии	70	ок. 6,0

Существуют данные, указывающие на благотворное действие некоторых удобрений (например, содержащих фосфор). Вместе с тем азотсодержащие туки как будто ослабляют формирование микоризы (см. ниже).

Все изложенное делает понятным, почему в верхних слоях почвы деревья имеют более богатую микоризу. Конечно, здесь наряду с питательными веществами обеспечен и свободный доступ кислорода, в котором грибы испытывают большую нужду.

Можно упомянуть, что уже давно Stahl (1900) пришел к заключению, что энергия формирования микоризы находится в обратной зависимости от плодородия почвы. Это мнение может быть принято как весьма условное, но при дальнейшей работе совершенно необходимо уточнить влияние типа почвы, агротехники и системы удобрений на развитие микоризы у растений.

В отношении влияния кислотности почвы на формирование микоризы единого мнения нет. Отдельные исследователи указывают как на наиболее оптимальный интервал pH = 4,0—5,0. Другие полагают, что микориза может образовываться довольно удовлетворительно в более широком пределе pH (4,5—7,5).

Не только особенности почвенного покрова влияют на развитие микоризы. Так как компонентом микоризы является корень растения, то совершенно очевидно, что и состояние растения сказывается в рассматриваемом нами процессе чрезвычайно сильно. Поэтому не без влияния остается интенсивность инсоляции и другие факторы, определяющие синтез в растении углеводов. Минеральные и органические удобрения, конечно, изменяют не только состояние гриба, но и растения.

Имеются данные, говорящие, что у молодых растений энергия микоризообразования более значительна (Бьоркман).

Заслуживает внимания факт, отмеченный Частухиным и сводящийся к тому, что в лесонасаждениях разного возраста меняется видовой состав грибов. Это указывает на существенные сдвиги в микробном ценозе лесных почв с течением времени. По данным Частухина, например, следует, что в молодых посадках сосны, пионером является Boletus luteus. В более старых насаждениях состав грибной флоры делается более разнообразным. Этот момент также может сказаться на формировании микоризы. В дальнейшем надо проработать вопрос о создании условий, способствующих скорейшему развитию в почве наиболее желательных грибов — микоризообразователей.

Следует думать, что и другие биологические факторы, как то состав травяной растительности леса и почвенной микрофлоры, должны значительно влиять на развитие микоризных грибов и образование микоризы. Последний момент, между тем, остается совершенно неосвещенным и обычно рост в почве грибов, вступающих в симбиоз с растением, рассматривается так, как будто бы он происходит в биологически пустой среде. В то же время известно, что многие низшие сапрофитные грибы обладают резко выраженным антагонистическим действием по отношению к микоризным грибам (Harley). Не исключено также, что аналогичным образом влияют некоторые актиномицеты и бактерии. Поэтому нам представляется весьма важным изучить образование микоризы деревьями в почвах с разными микробными ассоциациями. Наша точка зрения подтверждается опытами Brian (1945), показавшими, что, например, в верещатниковых почвах обильно размножающиеся пенициллы образуют глиотоксин, депрессирующий развитие микоризных грибов.

Растительность, имеющаяся в лесу, создает определенный ценоз микрофлоры, сказывающийся в свою очередь на образовании микоризы. Неудивительно поэтому, что в богатых мхами хвойно-смешанных лесах наблюдается наиболее сильное развитие микоризы.

С рассмотренной точки зрения значительный интерес представляют гнездовые посевы деревьев, осуществляемые по методу Лысенко. Это мероприятие будет способствовать более быстрому созданию ценоза микробов, свойственного данным лесным насаждениям.

Как видно из приведенных сведений, очень многие наиболее существенные вопросы, связанные с интересующей нас проблемой, остаются пока весьма слабо изученными.

Микроорганизмы, участвующие в образовании микоризы

Как мы уже отмечали в предыдущей главе, исследования Каменского и Воронина поставили на повестку дня вопрос об изучении грибов как симбионтов высших растений. Подобно Воронину (1885), многие исследователи склонялись к мысли, что шляпные грибы повинны в образовании микоризы (Magnus-Werner, 1900, Stahl, 1902, Burgeff, 1909).

Однако выделение чистой культуры грибов-симбионтов оказалось делом в достаточной мере сложным. Следует отметить, что вообще довольно долго вопрос о грибах, повинных в формировании микоризы, решался лишь косвенным методом установления связи между развитием в почве определенных видов грибов и образованием микоризы. Иногда подобные наблюдения сопровождались микроскопическими исследованиями, но совершенно очевидно, что лишь изолирование чистых культур грибов и проверка их воздействия на высшее растение могут безупречно выяснить вопрос о возбудителях микоризообразования.

Значительное время предпринимавшиеся попытки по выделению микоризных грибов оставались неудачными. Иногда тем или иным ученым как будто удавалось изолировать культуры подобных микроорганизмов, но при дальнейшей проверке они оказывались вульгарными сапрофитами (Fuchs, 1914, Moller, 1906 и другие).

Между прочим следует отметить, что диагностика грибов-микоризообразователей затруднена тем, что они, как правило, не образуют плодовых тел (или формируют атипичные плодовые тела) в условиях лабораторной культуры. Поэтому как для работы в поле, так и при выделении чистых культур желательно было бы пользоваться определителями грибов по мицелию, которые в настоящее время отсутствуют, но которые следовало бы составить.

Значительный сдвиг в интересующей нас области был сделан точными и обширными исследованиями шведского ученого Melin (1921—1925), который для ряда растений установил состав грибов — образователей

микоризы. Методикой работы, рекомендованной Мелиным, многие исследователи пользуются и до настоящего времени. Некоторые из работ Мелина были переведены на русский язык Ганешиным (1923).

Изолирование чистых культур микоризообразователей продолжалось после появления только что отмеченных работ. Заслуживает внимания камера, сконструированная Hatch для стерильного выращивания сеянцев в целях последующей проверки действия на них чистых культур грибов.

К настоящему времени изучено около 70 видов грибов-микоризообразователей. Они относятся преимущественно к классу базидиомицетов. Преобладают представители порядка гименомицетов и значительно реже среди них встречаются гастеромицеты, а также другие грибы.

В литературе как микоризообразователи указываются:

гименомицеты: Amanita, Boletus, Cortinarius, Lactarius, Tricholoma, Russula, Entaloma, Patillus, Armillaria, Hydnum, Clitocyle и другие;

гастеромицеты — Rhizopogon, Scleroderma;

аскомицеты — Tuber;

фикомицеты — Endogone; Fungi imperfecti, Rhizoctonia, Mycelium radicis atrovirens, Mycelium radicis nigrostrigosum, Mycelium radicis juniperus и другие.

В табл. 2—3 мы приводим данные Ячевского (1933), Modess (1941) и некоторых других исследователей, показывающие состав описанных компонентов микоризы разных древесных пород. Нетрудно установить, что за небольшой срок, прошедший с момента опубликования работы Ячевского, список грибов-микоризообразователей, хотя бы для сосны, значительно пополнился. Однако имеющиеся в настоящее время сведения нельзя признать достаточными.

Из приведенных материалов видно, что микориза у одного и того же растения может образовываться весьма различными грибами. Как указывает Курсанов, например, у бука в ценоз микоризных грибов входит до 12 видов.

С другой стороны, один и тот же гриб может давать микоризу с различными деревьями. Известная специфичность, впрочем, проявляется рядом грибов. Последнее обстоятельство хорошо объясняет весьма характерный состав шляпных грибов различных лесов.

Имеются также указания, что штаммы одного и того же вида гриба, выделенные из корней различных растений, отличаются по своим культуральным свойствам.

Надо полагать, что растение получает далеко не одинаковую пользу от сожительства с разными видами грибов. Между тем в зависимости от почвенного фона в состав микоризы могут входить разные грибы. Так, по наблюдениям Райнер, у сосны на бедных песчаных почвах микориза формируется при участии Boletus bovinus. При удобрении же данных почв компостами в корневой системе сосны обнаруживаются дополнительно Boletus luteus и Mycelium radicis migrostrigosum.

Работа будущего периода должна выяснить эффективность влияния различных грибов на развитие древесных пород и агротехнические мероприятия, способствующие активности наиболее полезных грибов-микоризообразователей.

Взаимоотношение гриба, образующего микоризу и растения

В настоящем обзоре мы остановимся лишь на вопросе о возможном влиянии наиболее нас интересующей экто- — эндотрофной микоризы на развитие древесных растений, оставляя в стороне раздел об эндотрофной и перитрофной микоризах.

Вопрос о взаимоотношениях растений и грибов, образующих микоризу, рассматривался многими учеными. Некоторые из них полагали, что здесь имеется явно паразитарное явление (Фаминцын, Hartig,

Таблица 2

Грибы-микоризообразователи у различных деревьев (по Ячевскому)

№ п/п	Грибы	Дуб	Сосна	Горная сосна	Лиственница	Лиственница сибирская	Ель	Береза	Осина
1	Amanita muscaria L.		+	—	+	+	+	—	—
2	Boletus badius Fr.		+	—	—	—	—	—	—
3	« granulatus L.		+	+	—	—	—	—	—
4	« luteus L.		+	+	+	+	+	—	—
5	« variegatus L.		+	+	+	—	—	—	—
6	« edulis Bull.		—	—	—	—	—	+	—
7	« rufus Sch.		—	—	—	—	—	+	+
8	« elegans Schum.		—	—	+	+	—	—	—
9	« scaber Bull.		—	—	—	—	—	+	+
10	Cortinarius muscoris Bull.		+	+	+	—	—	—	—
11	« balteatus Fr.		—	—	—	—	+	—	—
12	Lactarius deliciosus L.		+	+	+	+	+	—	—
13	Russula fragilis Bers.		+	+	—	—	—	—	—
14	Tricholoma virgatum Quel.		—	+	—	—	—	—	—
15	» psamnopus L.		—	—	+	—	—	—	—
16	« flavo-bruneum Quell.		—	—	—	—	—	+	—
17	Tuber borochii Vitt.	+							
18	« exacavatum Matt.	+							
19	« lepideum Matt.	+							

Таблица 3

Состав грибо-микоризообразователей

№ п/п	Грибы	Сосна	Ель	Автор
1	Amanita mappa Fr.	+	+	Modess
2	» muscaria L.	+	+	»
3	» pantherina Quel.	+	+	»
4	» rubescens Pers.	+	—	»
5	Boletus flavus Fr.	+	+	»
6	» subtomentosus Fr.	+	—	»
7	Entoloma rhodopolium Fr.	+	—	»
8	Lactarius helvus Fr.	+	+	»
9	» rufus Fr.	+	—	»
10	Patillus prunulus	+	—	»
11	Tricholoma albo-brunneum Quel.	+	+	»
12	» imbricatum Quel.	+	+	»
13	» passundatum Quel.	+	+	»
14	» vaccinum Quel.	+	—	»
15	Rhizopogon luteolus Fr.	+	—	»
16	» roseolus Fr.	+	—	»
17	Scleroderma aurantium Pers.	+	+	»
18	Russula	+	+	Rayner
19	Cortinarius muscoris Bull.	+		Melin
20	Lactarius deliciosus L.	+		»
21	Russula fragilis Bers.	+		»
22	Boletus badius Fr.	+		»
23	» bovinus L.	+		»
24	» granulatus L.	+		»
25	» luteus L.	+		»
26	» variegatus L.	+		»

McDugall и др.). Однако к настоящему времени данная точка зрения вряд ли может быть принята, так как имеется слишком много убедительных опытов, свидетельствующих о благотворном влиянии грибов на развитие древесной растительности. Не исключена возможность, что отмеченные выше ученые работали с больными растениями и за микоризу принимали грибные поражения растений.

В настоящее время не может считаться убедительным мнение Еленкина (1907), полагавшего, что в микоризе имеется обоюдный паразитизм высшего растения и гриба.

Мы уже отмечали далеко не одинаковое отношение отдельных древесных пород к грибам, но по крайней мере сеянцы некоторых деревьев (дуба, сосны, лиственницы и т. д.) без микоризы имеют плохо развитую корневую систему (рис. 5), слабо приживаются после высадки их

Рис. 5. Корни сосны (по Wilde). *1* — немикоризные корни, слабо разветвленные; *2* — корни с эктотрофной микоризой

на постоянное место и значительно чаще погибают в течение первых двух лет. Поэтому не удивительно, что такие выдающиеся ученые, как Каменский, Воронин, Вильямс, Комаров и Высоцкий, думали о симбиотических отношениях между грибами и высшими растениями. Имеются даже указания о меньшей подверженности заболеваниям деревьев с микоризой (Гартиг, Адамович и др.).

Цитологические исследования показывают, что между корнем и грибом устанавливается состояние известного равновесия, которое резко отличается как от ризосферного, так и от паразитарного типов взаимоотношений. Мы уже отмечали, что в известной зоне коры происходит растворение (дигестия) грибных гиф, внедряющихся в клетки. Этот процесс протекает различно в зависимости от вида растения и условий внешней среды. Клетки растения-хозяина определенно противодействуют внедрению в них гриба, но вместе с тем не удаляют его из определенной зоны межклетников.

В том случае, если гифы проникают в клетку, в ней отмечается увеличение клеточного ядра, которое приходит в норму лишь после растворения грибного мицелия. В корне, имеющем микоризу, увеличивается количество дубильных веществ и, очевидно, происходит еще ряд ближе не изученных изменений.

Учитывая тесную связь между грибом и корнем растения, значительная часть ученых признает теорию о микотрофном питании древесных пород. Данная точка зрения тем более вероятна, что корни так плотно окутываются мицелием гриба, что сами лишаются способности непосредственно соприкасаться с почвенными частицами и их корневые волоски к тому же редуцируются. Поэтому можно предположить, что вода и растворенные в ней вещества получают доступ к растению исключительно через гифы грибов.

Заслуживающие внимания теории о взаимоотношении грибов с высшими растениями развили наши ученые. Вильямс считал, что грибы разрушают перегнойные вещества и благодаря этому улучшают питание растения, в особенности азотсодержащими соединениями. В своем известном учебнике «Почвоведение с основами земледелия» он писал: «Микотрофизм представляет способ усвоения высшими зелеными растениями зольных элементов их пищи и азота из среды, заключающей эти элементы пищи в форме органического вещества, сохраняющегося в обстановке анаэробиозиса, причем питание осуществляется посредством симбиотического сожительства высших зеленых растений с мицелием гриба. Микотрофный тип питания растений распространен в природе едва ли не больше, чем автотрофный тип питания».

По существу тождественной точки зрения придерживался и Никитинский (1902), а также некоторые зарубежные исследователи (Frank и др.).

Следует отметить весьма красочное подтверждение только что описанной теории, данное McDougal и Dufrenoy (1944). Эти исследователи выращивали изолированные микоризные корни сосны в течение нескольких сезонов в лабораторных условиях и пришли к заключению о способности гриба обеспечивать растение не только элементами минерального питания, но и углеродсодержащими веществами.

Многочисленные данные свидетельствуют, что деревья, имеющие микоризу, значительно больше воспринимают из внешней среды не только азот, но и другие элементы минерального питания. Это представление достаточно четко было высказано еще в 1900 г. Stahl, а позднее подтверждено серией работ (McComb, Mitchell, Rayner и др.).

По данным Мак Комба, на песчаных суглинках Айовы (США) сеянцы сосны, имеющие микоризу, значительно больше ассимилируют калия, азота и фосфора. В результате они значительно лучше развиваются, и их валовой вес вдвое превышает контроль, не имеющий микоризы.

Лобанов, успешно изучавший в Советском Союзе микоризу в течение ряда последних лет, также указывает, что без гриба деревья получают значительно меньше элементов минерального питания.

Основываясь на фактах, аналогичных только что приведенным, в 1936 г. Hatch выдвинул адсорбционную теорию. Эффективность микоризы он склонен был в значительной мере объяснять сильным увеличением адсорбционной поверхности корня за счет обрастающего ее гриба. Гатч приводит данные, показывающие, что корневая система микоризных сеянцев сосны может адсорбировать почти на 90% больше азота, на 75% больше калия и на 240% больше фосфора по сравнению с корневой системой немикоризных растений.

Mitchel и Finn (1942), а также Routien и Dowson (1943), полностью поддерживая адсорбционную гипотезу, отмечали вместе с тем, что микориза способствует ассимиляции не только K, N и P, но и других элементов (Ca, Fe, Mg и т. д.). Интересно указание на то, что повышенная адсорбционная возможность корней с микоризой позволяет растению развиваться при более низкой кислотности среды, чем без ее наличия.

Как нам кажется, адсорбционная теория лишь односторонне освещает влияние гриба на рост растения. Благодаря развитию гриба не только увеличивается размер активной поверхности корня, но и усиливаются в ризосфере минерализационные процессы. Это также улучшает питание растения. Не исключается возможность, что растения ассимилируют вещества, находящиеся в мицелии, переваривая его в своих клетках.

Высказывалось соображение, что грибы-микоризообразователи могут фиксировать азот атмосферы и снабжать им растение-хозяина. Однако данное положение можно считать доказанным лишь для симобионтов вереска.

Заслуживает внимания положительная роль колоссальной поглощающей поверхности микоризного мицелия в снабжении дерева водой (Вильямс и др.). По вычислениям Лобанова, отношение испаряющей поверхности к поглощающей у деревьев во много раз меньше, чем у злаков. Это можно видеть из следующих цифр, вычисленных для одного растения:

Растение	Поглощающая поверхность в м²	Испаряющая поверхность в м²
Рожь	625	4,5
Сеянец сосны	9,5	29,1
» ели	17,2	29,6
» лиственницы	16,3	21,7

Как видно, у древесных пород корневая система крайне слаба и симбиотические грибы сильно увеличивают всасывающую поверхность, способствуя снабжению дерева водой.

Приведенные данные для поглощающей поверхности корней деревьев, очевидно, следует сильно уменьшить, так как подавляющая часть поверхности сосущих коротких корней является опробковевшей и вряд ли принимает активное участие в процессе всасывания воды (Иванов, Манцевич).

Следует отметить, что значение водного баланса почвы в формировании микоризы и выполняемой ею физиологической функции совершенно не выяснены.

Оказывая существенную пользу растению, грибы, конечно, в свою очередь заимствуют от него некоторые нужные им питательные вещества. Так Melin (1925) и некоторые другие исследователи отмечают, что большинство известных грибо-микоризообразователей нуждается в качестве источника углеродного питания в простых сахарах. Большинство выделенных в чистой культуре грибов, образующих микоризу, не растет на сложных углеводах. Поэтому можно полагать, что грибы, пребывая в симбиотическом отношении с высшим растением, пользуются синтезируемыми им углеводами. Последние, как известно, всегда содержатся в достаточном количестве в корневой системе деревьев.

Имеются, впрочем, указания, заставляющие признать, что в некоторых условиях грибы-микоризообразователи могут снабжать растение органическим углеродсодержащим питанием. Так, в лабораторных опытах Young (1948) микоризные грибы Boletus granulatus и Boletus viscidus, разлагая клетчатку, образовали столь значительное количество растворимых углеводов, что в атмосфере, лишенной CO_2, они обеспечивали развитие на песчаном субстрате сеянцев Pinus taeda. Без гриба в этих же условиях сеянцы не росли.

Бьоркман вполне резонно указывает, что на почвах, богатых азотом, в растениях не должно накапливаться свободных углеводов, так как они быстро идут на синтез белков. Поэтому на тучных почвах микориза не образуется, так как грибы лишаются необходимых им сахаров. Как известно, аналогичная картина имеет место и при симбиозе у бобовых растений. Удобрение бобовых азотом подавляет у них формирование клубеньков.

Грибы-микоризообразователи получают из растения не только органические вещества. Многие из них не могут развиваться на синтетических средах в отсутствие витаминов (Rommell, 1939; Melin, 1940; Fries, 1942—1943, и др.). Однако, если к культуре гриба внести какой-либо микроорганизм (например, виды Torula), синтезирующий витамин, то развитие его становится возможным. Это было установлено для таких грибов, как Amanita mappa, Patillus involutus и т. д. Другие же грибы, как Amanita rubescens, Patillus pruxulus, прорастали без активаторов.

Из работ Мелина ясно видно, что аневрин является решающим фактором в прорастании многих грибов, другие же в нем не нуждаются.

Следует указать, что вопрос об отношении грибов-микоризообразователей к дополнительным факторам роста все же весьма слабо разработан. Бьоркман, например, определенно утверждает, что грибы-микоризообразователи не нуждаются в аневрине, биотине и гетероауксине. Более того, Райнер, Джонс и другие исследователи считают, что грибы, являющиеся компонентами микоризы, сами выделяют так называемые ростовые вещества и это, еще до внедрения гриба в растение, усиливает ветвление его корня.

Следует напомнить, что корни с микоризой значительно более разветвлены по сравнению с развивающимися без грибного симбиоза (рис. 5).

В общем практика показывает, что влияние микоризных грибов на древесные породы благотворно и при наличии гриба растение развивается значительно лучше. Еще раз напомним, что Высоцкий уже в 1902 г. установил, что деревья из семян на степных почвах и черноземах плохо развиваются без заражения их грибами, образующими микоризу. В достаточно обширных опытах, проведенных в Великом Анадоле и под Мариуполем (1929), он позднее подтвердил ранее сделанные им выводы.

Весьма красочны материалы Баранея (1940), показывающие, что одной из причин трудности культивирования дуба в степях является отсутствие у него микоризы (если при посадках не производилась инокуляция). Он выдвигает положение о невозможности нормального развития дуба, по крайней мере в первые годы его роста, на степных почвах без микоризы. Безмикоризные сеянцы и саженцы плохо растут и часть из них преждевременно гибнет.

Для показа влияния микоризы на развитие дуба приводим из работы Баранея таблицу (табл. 4).

Таблица 4

Влияние микоризы на развитие сеянцев дуба

Произведенные наблюдения	Сеянцы	
	с микоризой	без микоризы
Длина надземной части в см	35,5	17,5
Прирост за 2 й год в см	18,5	3,0
Длина второстепенных побегов в см	10,0	0,3
Вес надземной части в г	17,0	3,1
» корней в г	11,0	4,5
Число листьев	42,0	12,0
Общая листовая поверхность в см²	591,0	98,0

В опытах же Баранея, проведенных со степными темнокаштановыми и черноземными почвами, было достаточно наглядно показано, что без дополнительного заражения микориза образуется плохо.

К выводам, аналогичным только что разобранным, приходит на основании своего опыта Присяжнюк.

Зарубежные исследователи также поддерживают положение о большой пользе, приносимой грибами-микоризообразователями. Отметим несколько примеров. Так, Hatch (1936) и White (1941) неудачи, имевшие место при облесении прерий, объясняют недооценкой значения инокуляции растений при посадках.

В своих опытах Rayner (1934—1946) весьма красочно показала, какую колоссальную роль играет микориза при развитии молодых расте-

ний. На рис. 6 мы приводим фото Райнер, которая показывает, сколь эффективно бывает заражение сосны компостом как источником соответствующих грибов. Удобрительная ценность компоста в данном случае не могла объяснить наблюдавшийся положительный результат. Райнер проводила свои опыты на бедных песках и полагает, что компосты сильно улучшали микробиологический режим этих малоплодородных почв.

Рис. 6. Шестимесячные сеянцы сосны (по Rayner). *1—К 0* контрольных делянок (неудобренных); *К 5* — с делянок, удобренных компостом

В 1937 г. Мак Комб произвел наблюдения над сеянцами Pinus virginata, посаженными на суглинистых почвах, после многолетнего их сельскохозяйственного использования. Часть питомника была удобрена подстилкой из соседнего хвойного леса. Выяснилось, что не инокулированные безмикоризные сеянцы уже в первый год жизни имели покрасневшую хвою и были слабее развиты, чем микоризные.

Мелин (1936), Гатч (1936) и Вильде (1946) на основании опыта заключили о слабом развитии ряда безмикоризных древесных пород.

Примеры, подобные приведенным, могли бы быть умножены. Все они свидетельствуют только наглядно о том, что при посадках леса на тех местах, где давно не росли одноименные породы, следует заботиться об искусственном заражении почвы грибами-микоризообразователями. Вместе с тем интимная сторона взаимоотношений между грибами и высшими растениями еще весьма слабо выяснена, и здесь предстоит проделать весьма большую работу.

Заражение лесных посадок грибами, образующими микоризу

Материал, приведенный в предыдущем разделе, говорит о благотворном влиянии заражения древесных пород микоризными грибами. Это приводит к необходимости выяснения организационного вопроса о путях обеспечения сеянцев и саженцев ряда древесных пород соответствующими грибами.

Высказывалось мнение, что семена растений могут содержать в себе гриб, обеспечивающий нормальное развитие молодого дерева. Однако данное представление вряд ли можно считать обоснованным, так как неинокулированные растения, посаженные на почвах, не бывших под лесом, обычно не имеют достаточно развитой микоризы. Слабое же ее образование может быть объяснено механическим загрязнением семян почвой, содержащей некоторое количество микроорганизмов, в том числе грибов-компонентов микоризы.

Для обеспечения нормального роста сеянцев и саженцев необходимо заботиться об обеспечении заражения их корневой системы соответствующими грибами. Идеально было бы, конечно, базироваться на применении чистых культур микроорганизмов, но в силу выясненных ранее при-

чин это в настоящее время нереально. Практически приходится использовать для инокуляции деревьев почву, взятую из соответствующих насаждений. При этом следует выбирать заведомо здоровые массивы, так как в противном случае не исключается распространение с почвой различных вредителей растений.

Высоцкий (1902), Пятницкий (1932), Сахарова (1937), Юрре (1939), Бараней (1940) и другие исследователи пришли к убеждению, что при посадках леса на черноземных, темнокаштановых и других почвах, на которых не было в недавнее время лесных насаждений, следует под растения вносить почву, содержащую грибы-микоризообразователи.

Остановимся прежде всего на приемах, используемых при закладке питомников. Если посев производится на небольшой площади, то для заражения можно пользоваться микоризой хорошо развитых растений. Бараней советует микоризу измельчать и смешивать с землей, взятой из-под того же растения. Перед употреблением приготовленную смесь можно хранить во влажном состоянии несколько дней. Высушивание заметно снижает жизнедеятельность грибов. При высеве семян почва с микоризой вносится на дно борозды или на дно ямки, в которую производится посев.

Если засевается большая площадь, для которой трудно собрать нужное количество микоризы, можно использовать почву из под соответствующих деревьев.

Ахромейко советует из-под деревьев брать почву на глубину до 10—12 см, включая перепревший слой подстилки. При транспортировке почву следует сохранять во влажном состоянии, для чего стенки ящика, его дно и поверхность взятой почвы рекомендуется прикрывать лесной подстилкой.

На 1 га площади питомника достаточно взять 30—50 кг почвы. Лесная почва с подстилкой на месте перемешивается с перегноем или хорошо разложившимся компостом и до употребления сохраняется в увлажненном состоянии. Перед посевом подготовленная масса разбрасывается по поверхности почвы и запахивается на глубину до 20 см.

Менее надежным Ахромейко считает смешение семян древесных пород с землей, содержащей микоризные грибы.

Нам представляется, что целесообразнее использовать местное внесение лесной почвы под семена, как это в своих опытах делал Бараней.

Для многих случаев правильной должна быть признана рекомендация Ахромейко об удобрении питомника органическими веществами. Он советует почвы питомников заправлять 50—60 т навоза, 50—60 т компоста или 70—80 т лугового торфа (из расчета на 1 га). Эти удобрения равномерно разбрасываются по полю и запахиваются.

Компост может быть приготовлен из разного органического материала — листьев деревьев, мусора, соломы, печной золы, минеральных удобрений и т. д. При внесении торфа дается полная норма смеси минеральных удобрений. Внесение в почву органических веществ усиливает развитие гриба и корневой системы растений.

При полевом лесонасаждении, если посадки производятся на бедных органическими веществами почвах (светлокаштановые и бурые почвы, пески и т. д.), особо необходимо внесение органических удобрений. Они могут быть внесены на всю территорию посадки или в ямки, под растение. В первом случае следует применять нормы, рекомендованные для питомников, во втором случае в каждую посадочную ямку дается от 0,5 до 1 кг органических удобрений, смешанных с солями и содержащих 1,2—2 г азота, 2—4 г фосфорной кислоты и 1,5—2 г окиси калия. Вносимые удобрения перемешиваются примерно с 10-кратным количеством почвы (Ахромейко).

Если саженцы имеют микоризу, то при посадке в поле нет нужды их дополнительно заражать лесной почвой. Следует лишь следить, чтобы

земля с корней, по возможности, не стряхивалась. Саженцы, не содержащие микоризы, целесообразнее не использовать или в крайнем случае под их корневую систему следует вносить почву из-под соответствующего лесного насаждения. В таком случае микоризная земля перемешивается в ямке с внесенными удобрениями. Верхняя часть ямки со скелетными корнями может быть заделана чистой почвой.

Наиболее просто вносить микоризу в почву путем пересыпания корней влажной микоризной землей в момент укладки саженцев в корзины или ящики.

При высеве семян непосредственно в поле обязательно применение инокуляции, для которой используется лесная почва или почва питомника.

Микрофлора лесных почв и ее специфические особенности

Вопрос об успешной приживаемости грибов-микоризообразователей в почве заставляет проанализировать особенности микробного ценоза, в окружении которого им приходится существовать.

До последнего времени микробиологические учреждения Советского Союза изучали преимущественно микрофлору почв, занятых под сельскохозяйственные культуры. Это, пожалуй, было вполне понятно, так как данное направление работ было связано с изысканием подходов к повышению урожайности.

Тем не менее были произведены отдельные исследования по выяснению состава микронаселения лесных почв, которые позволяют составить некоторое представление об особенностях процессов, имеющих место в почвах, занятых древесными породами.

Мы можем с удовлетворением отметить, что, несмотря на недостаточность материала по микрофлоре лесных почв, в Советском Союзе была проведена в общем большая работа в данном направлении по сравнению с другими странами.

Впервые четко отметил особенности лесных почв с точки зрения состава их микрофлоры Вильямс, развивавший оригинальную теорию единого почвообразовательного процесса. Он указал, что под сомкнутым лесом, особенно в подстилке, довлеют процессы, вызываемые грибами. При развитии под лесом луговой или дерновой формации значительное участие в жизни почвы начинают принимать бактериальные ассоциации. В практической обстановке чаще всего приходится иметь дело со случаями второго порядка.

Позднее микробиологией лесных почв, расположенных в разных частях Советского Союза, интересовались весьма многие исследователи. Здесь мы можем отметить работы Бересневой (1927), Шульгиной (1927), Гижицкой (1935), Курсанова с сотрудниками (1938), Доброгаева (1938), Трутнева и Скрипкиной (1947), Халабуды (1948), Частухина (1948) и Мишустина (1947—1948).

Из иностранных работ можно отметить солидное исследование Feher (1933).

В данной статье мы не можем останавливаться на сколь-либо подробном анализе полученных в результате опытной работы данных. Отметим лишь, что сведения, собранные к настоящему времени, позволяют сделать заключение о весьма большом разнообразии микронаселения лесных почв. Соотношения отдельных групп микробов при этом могут весьма существенно меняться в зависимости от типа насаждения, его характера, возраста и т. д.

Весьма существенно, однако, не только абсолютное богатство почвы теми или иными микроорганизмами, но и их видовой состав. В этом отношении весьма интересны данные Халабуды, которые показывают, что в лесных почвах встречаются иные низшие грибы (микрофиты), чем в

полевых почвах. Проведенные нами исследования позволили установить, что под разными лесными насаждениями встречаются далеко не тождественные грибы. Так, например, микромукор, дающий краснопигментированные колонии, мы обнаруживали только в почве, занятой елью. Вряд ли стоит здесь сколь-либо детально останавливаться на ценозе макрофитов, состав которых сильно меняется с возрастом насаждения (Частухин).

По нашим же наблюдениям, произведенным в зоне подзолистых почв, можно заключить о весьма резко отличном составе бактериального населения лесных и полевых почв. В первых, например, в значительно большем количестве встречаются представители рода Flavobacterium. Из спороносных бактерий в лесных почвах доминантной формой является Bac. cereus, в то время, как в почвах, занятых сельскохозяйственными культурами, этот микроб играет малозаметную роль. В лесу практически отсутствуют представители группы Bac. megatherium и т. д.

Бегло приведенные примеры показывают, что микробные ассоциации лесных почв в достаточной мере специфичны. Это заставляет думать о создании в зоне корня сеянца или саженца обстановки, привычной для грибов-микоризообразователей, без чего их развитие может быть депрессировано. Необходимо также развернуть солидную работу по изучению взаимоотношений между отдельными компонентами ассоциации почвенных микроорганизмов и гриба, образующими микоризу.

Заключение

Приведенный в нашем обзоре материал показывает, что микробиологическому фактору принадлежит значительная роль при осуществлении плана воспроизводства полезащитных лесонасаждений. На основе литературного материала показано, что грибы-микоризообразователи совершенно необходимы для обеспечения нормального развития древесных пород и в практике данное обстоятельство должно быть учтено. При закладке питомников и посадках саженцев на почвах, длительное время не бывших под лесом, следует проводить инокуляцию тем или иным приемом.

Можно притти к заключению, что проблема взаимоотношений между грибами-микоризообразователями и высшими растениями к настоящему моменту освещена совершенно недостаточно и ей вообще уделяли мало внимания. Следует также уточнить условия, благоприятствующие образованию микоризы и, по возможности, изучить состав грибов-симбионтов у разных растений.

В будущей работе следует также уделить внимание вопросу о приживаемости грибов-микоризообразователей в почве и разработать мероприятия, способствующие усилению их жизнедеятельности.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 22.IV.1949

ЛИТЕРАТУРА

Адамович Д. А. Влияние микоризы на рост сосновых культур. Лесное хоз-во, № 15, 1935.
Ахромейко А. Как обеспечить лесопосадки микоризой. Газ. «Соц. земледелие» от 23/III 1949 г., № 68 (5251).
Бараней А. В. Влияние микоризы на рост и состояние дуба. Лесное хоз-во, в. 6, 31, 1939.
Бараней А. В. Опыты внесения микоризных грибов в почву. Лесное хоз-во, в. 10, 45, 1940.
Вильямс В. Р. Почвоведение в основном земледелии. Гос. изд-во, 1946.
Воронин М. С. Ueber die bei Schwarzerde und der gewöhnlichen Garten Lupine auftretender Wurzelschwellungen. Mém. de l'Acad. Imp. Sci. St-Pétersb., 10, 2, 1886.

Высоцкий Г. Н. Микориза дубовых и сосновых сеянцев. Лесопромышленный вестник, в. 29, 504, 1902.
Высоцкий Г. Н. Напоминание степным лесоводам о микоризе. Лесное хоз-во, в. 10/11, 1929.
Ганешин. О связи микоризы сосны и лиственницы с гименомицетами Boletus luteus и Boletus elegans (с подробным изложением работ Э. Мелина за 1921—1922 гг.). Болезни растений, 4, 105, 1923.
Гриневецкий Б. Памяти проф. Франца Михайловича Каменского. Тр. Ботанического сада имп. Юрьевского ун-та, 1912.
Дорохова Н. А. О микотрофном питании пшениц. Доклады Московской сельскохоз. академии им. Тимирязева, вып. VII, 24, 1948.
Еленкин А. А. Микориза и аналогичные проявления симбиоза между грибами и корнями высших растений. Болезни растений, **1**, 3, 1907.
Иванов Л. А. Об анатомическом строении корневых окончаний у сосны. Изв. Лесного ин-та, 30, 151, 1916.
Исаченко Б. Л. Новое в биологии и культуре орхидей. Природа, № 1—3, 83, 1925.
Каменский Ф. М. Die Vegetationsorgane der Monotropa hypopitis L. Bot. Ztg., **39**, (29), 457, 1881.
Каменский Ф. М. Материалы для морфологии и биологии Monotropa hypopitis L. Записки Новороссийского об-ва естествоисп. Одесса, 1, 1883.
Каменский Ф. М. О симбиотическом соединении мицелия грибов с корнями высших растений. Тр. СПб. об-ва естествоиспыт., XVII, 34, 1886.
Каменский Ф. М. О явлениях симбиоза в растительном царстве. Одесса, 1891.
Клечетов А. Н. Микориза в корнях тау-сагыза (Анатомическое исследование грибного эндофита). Агробиология, 6, 119, 1947.
Комаров В. Б. Возможен ли фагоцитоз у растений. Природа, ноябрь, 1389, 1915.
Комаров В. Л. Происхождение растений. АН СССР, Ленинград, 1933.
Криштофович А. Н. Палеоботаника, 3-е изд., 74 стр., 1941.
Курсанов Л. И. Микология, 1940.
Лобанов Н. В. Методика изучения роста корней древесных культур при различных влажностях почвы. ДАН СССР, LV, 549, 1947.
Лобанов Н. В. Микориза лесных растений. Доклады Брянского лесохоз. ин-та, Сб. 1, 9, 1947.
Лобанов Н. В. Микотрофный тип питания лесных деревьев. Лесное хоз-во, в. 43, 1949.
Лобанов Микориза и степное лесоразведение. Газ. «Соцземледелие» от 9/VII, 1948 г., № 161.
Лобанов Н. В. Формирование эктотрофных микориз на корнях деревьев в течение вегетационного периода. ДАН СССР, LXIV, № 4, 579, 1949.
Лысенко Т. Д. Агробиология. 4-е изд., 1948, Москва.
Лысенко Т. Д. Опытные посевы лесных полос гнездовым способом. Сельхозгиз 1949 г. и Агробиология № 13, 1949.
Магру Ж. Симбиоз у орхидей и у картофеля. Изд-во иностранной литературы, 1948.
Манцевич Д. И. Анализ хода приживания сосны в культурах 1948.
Никитинский Я. Я. Über die Zersetzung der Huminsäure durch Mikroorganismen. Jahrb. Wiss. Bot., **34**, 365, 1902.
Фаминцын А. С. О роли симбиоза и об эволюции организмов. Тр. СПб. об-ва естествоисп., 38, 141, 1907.
Частухин В. Я. Экологический анализ распада растительных остатков в молодых сосновых насаждениях. Почвоведение, в. 2, 87, 1948.
Юрре Н. А. Письмо в редакцию журнала Лесное хозяйство, в. 12, 17, 1939.
Ячевский А. А. Основы микологии, 1933.
Asai T. Über das Vorkommen und die Bedeutung der Wurzelpilze in der Landpflanzen. Jap. J. Bot., 7, 107, 1935.
Bjorkman E. Über die Bedingungen der Mykorrhizabildung bei Kiefer und Fichte. Symb. bot. Uppsal., **6** (2), 190, 1942.
Brian P., Hemming H. a. McGowan J. Origin of toxity to mycorrhiza in *Warcham heath* soil. Nature, 155, 637, 1945.
Burgeff H. Die Wurzelpilze der Orchideen Jena, 1909.
Burges A. On the significance of mycorrhiza. New phytol. **35**, 117 1936.
Frank B. Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. Ber. Deutsch. Bot. Ges., **3**, 1885.
Fries N. Über die Bedeutung von Wuchsstoffen für das Wachstum verschiedener Pilze. Symb. bot. Uppsal., 3 (2), 190, 1938.
Fries N. Über die Sporenkeimung bei einiger Gasteromyceten. Archiv. Microb., **12**, 266, 1941.
Fries N. Untersuchungen über Sporenkeimung und Mycelentwicklung bodenbewohnender Hymenomyceten. Symb. bot. Uppsal., **6** (4), 81, 1943.
Fries N. Die Einwirkung von Adermin, Aneurin und Biotin auf das Wachstum einiger Ascomyceten. Symb. bot. upsal., **7** (2), 73, 1943.
Fuchs J. Über die Beziehung von Agaricacienen und anderen humusbewohnenden Pilze zur Mykorrhizabildung der Waldbäume. Stuttgart, 1914.

Harley J. Z. Mycorrhiza and soil ecology. Biol. Rev., **23** (2), 127, 1948.
Hartig R. Lehrbuch der Baumkrankheiten. 1889.
Hatch A. B. The rôle of mycorrhiza in afforestation. J. forest, **34**, 1936.
Hatch A. B. The physical basis of mycotrophy in Pinus. Black rock. forest. Bull., **6**, 1937.
Jahn E. Die peritrophe Mycorrhiza. Ber. Deutsch. Bot. Ges., **52**, 463, 1934.
Jahn E. Die peritre Mycorrhiza. Ber. Deutsch. Ges., **53**, 847, 1935.
Loehwing W. E. Boot interaction of plants. Bot. Rev., **4**, 1, 195, 1937.
McComb A. Z. Mycorrhizae and phosphorus nutrition of pine seedlings in a prairia soil nursery. Jowa Agr. Exp. St. Res. Bull., 314, 1943.
McDougal D. T. and Dufrenoy J. Mycorrhizal symbiosis in Aplectrum, Corallorhiza and Pinus. Plant Physiol., **19**, 440, 1944.
McDougal D. T. and Dufrenoy J. Criteria of nutritive relations of fungi and seed plants in mycorrhizae. Plant Physiol., **21**, 1, 1946.
McDougal D. T. and Dufrenoy J. Mechanism of mycorrhiza of pine roots. Yearb. Am. Philos. Soc., 1943.
Melin E. Untersuchungen über die Bedeutung der Baummycorrhiza in eine ökologisch-physiologische Studie. Jena, 1925.
Melin E. Methoden der experimentellen Untersuchungen mykotropher Planzen. Hand. Biol. Arbeitsmethoden. II, (4), 1015, 1936.
Melin E. und Nyman B. Weitere Untersuchungen über die Wirkung von Aneurin und Biotin auf das Wachstum von Wurzelpilzen. Arch. Mikrobiol., **11**, 1940.
Melin E. Der Einfluss von Waldstreuextrakten auf das Wachstum von Bodenpilzen mit besonderer Berücksichtigung der Wurzelpilze von Bäumen. Symb. bot Uppsal., 8, (3) 116, 1946.
Modess O. Zur Kenntnis der Mykorrhizabildung von Kiefer und Fichte. Symb. bot. Uppsal., **5** (1), 146, 1941.
Moller A. Mycorrhiza und Stickstoffernährung. Ber. Deutsch. Bot. Ges., **24**, 230, 1906.
Rayner M. C. and Neilson-Jones W. Problems in tree nutrition. London, Faber, 1946.
Routien J. B. and Dawson R. T. Some interrelationships of growth, salt absorption, respiration and mycorrhizal development in Pinus echinata. Am. J. Bot., **30**, 440, 1943.
Schaede R. Die pflänzlichen Symbiosen. 1943.
Schmidt E. Mycorrhizae and their relation to forest soils. Soil Sci., **64** (6), 459, 1947.
Schopfer W. H. Plants and vitamins. Chronica botanica USA, 1943.
Stahl E. Der Sinn der Mycorrhizenbildung. Jahrb. Wiss. Bot., 34, 539, 1900.
Starkey R. L. Influence of the proximity to roots on abundance and activity of microorganisms. Soil. Sci., **32**, 367, 1931.
White D. P. Prairie soil as a medium for three growth. Ecology, **22**, 309, 1941.
Wilde S. A., Forest soils and forest growth. Chronica botanica. USA, **18**, 1946.
Young H. Carbohydrate absorption by roots of Pinus taeda. Biol. Abst., 22 (5), 1043, 1948.

Л. ПОПОВ — ПЕРВЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬ СБРАЖИВАНИЯ КЛЕТЧАТКИ И МУРАВЬИНОЙ КИСЛОТЫ

И. Л. Работнова

В 1875 г. петербургский ученый Л. Попов опубликовал исследования по биологическому образованию метана. Объектом исследования он взял ил из сточной канавы как материал, который в большом количестве выделяет этот газ. Автор поставил перед собой выяснение следующих вопросов: 1) какие количества газа может образовать ил в различных условиях, 2) из какого именно вещества ила образуется метан и 3) что является причиной образования газа.

Ил разводился водой и помещался в 1—2-литровую колбу. В некоторых случаях в колбе над жидкостью оставалось немного воздуха, в других — колба заполнялась жидкостью целиком. Колба затыкалась каучуковой пробкой с пропущенной через нее изогнутой стеклянной трубкой и переворачивалась кверху дном. Выделяющийся газ собирался и анализировался. Анализ газа по ходу брожения показал, что кислород воздуха довольно быстро исчезает и образует CO_2 и CH_4 в соотношении 1 : 1. Автор наблюдал выделение газа при разных температурах: 6, 10, 20, 25, 45 и 50—55° и выяснил, что при низких температурах газовыделение идет очень вяло. При температуре 20—40° оно идет наилучшим образом, при 45° ослабевает и при 50—55° прекращается. Это наблюдение дало право Попову утверждать, что образование метана есть биологический процесс, напоминающий спиртовое брожение. Изучаемый им процесс он назвал метановым брожением. Рассматривая бродящую массу под микроскопом, он обнаружил бактерии, которых и считал возбудителями брожения.

В то время уже было известно, что, добавляя различные вещества к бродящим дрожжам, можно ускорять или замедлять брожение.

Попов вел метановое брожение в присутствии следующих веществ: KCN, стрихнин, кураре, хинин, атропин, хлороформ, карболовая кислота, KCl, кислород. Выяснилось, что KCN совершенно останавливает брожение, стрихнин — ускоряет, а все остальные вещества — угнетают.

Далее автор останавливается на решении вопроса о том, какие же вещества ила подвергаются брожению и являются источником метана. Уже микроскопические наблюдения подсказали ему, что сбраживаемым веществом может быть клетчатка, так как в иле он наблюдал большое количество клетчатковых волокон. Он поставил ряд опытов с самыми разнообразными веществами: с картофельным крахмалом, картофельной мязгой, мясом, сеном, шведской бумагой, а также с солями органических кислот — уксусной, муравьиной, щавелевой и винной. В качестве источника заражения он брал небольшое количество ила. Во всех случаях наблюдалось выделение газа, выделялись не только метан и углекислота, но и водород, а иногда и азот. Однако во всех случаях, когда в сбраживаемом материале имелась клетчатка,— выделялся метан. Настоящее метановое брожение автор получил на чистой клетчатке — шведской бумаге. В остальных случаях шло смешанное метановое и маслянокислое брожение. Последнее и обусловливало появление водорода. Брожение клетчатки Попов исследовал более детально. Он установил, что в начале брожения преобладает углекислота, а к концу количество метана и углекислоты сравнивается. Клетчатка разрушается

Реакция среды остается нейтральной. Результаты различных опытов с клетчаткой получались довольно постоянные.

Попутно Попов описывает сбраживание муравьиной кислоты. Он употреблял муравьинокислый кальций, который заражал илом. Брожение вел в присутствии воздуха. По ходу брожения стенки сосуда покрываются осадком, который автор идентифицирует как карбонат кальция (по растворимости в укусусной кислоте с образованием газа). Единственными газами брожения оказались CO_2 и H_2. На основании этих наблюдений Попов дает химическое уравнение брожения: $Ca(HCOO)_2 + 2H_2O \rightarrow Ca(HCO_3)_2 + 2H_2$.

После этих исследований Попова вопрос о метановом брожении клетчатки и о сбраживании муравьивой кислоты был продвинут Омелянским в Петербурге, в лаборатории Виноградского. Его классические работы опубликованы в России в 1899 г. и в виде ряда статей в «Zentralblatt für Bakteriologie» за 1902 и 1903 гг. В работах, посвященных брожению клетчатки, Омелянский выделил в чистом виде возбудителей брожения, причем разделил брожение метановое и водородное.

В работах, посвященных разложению муравьиной кислоты. Омелянскому также удалось получить возбудителя Bact. formicicum в чистом виде и изучить в деталях его свойства.

Интересно отметить, что после работ Попова, но до работ Омелянского, этими же брожениями занимался немецкий биохимик Hoppe-Seyler, в лаборатории которого в Страссбурге была выполнена работа Попова. Его статьи опубликованы в «Zeitschrift für physiologische Chemie» в 1886 и 1887 гг. Однако он не дал ничего нового по сравнению с данными Попова.

Таким образом, почти 75 лет назад русскому ученому впервые удалось исследовать брожение клетчатки и муравьиной кислоты. Все дальнейшие исследования только подтвердили его данные.

Лишь много лет спустя, в 20-е и 30-е годы, исследования над клетчатковым брожением и над брожением муравьиной кислоты появились на Западе. Наиболее существенные данные об этих процессах, полученные в последние десятилетия, опять принадлежат русским исследователям. Это — ставшие классическими исследования Имшенецкого над анаэробными целлюлозными бактериями и интересная работа Красиной о бактериях, сбраживающих муравьиную кислоту.

ЛИТЕРАТУРА

1. Имшенецкий А. А. Микробиология анаэробного разложения целлюлозы. Микробиология, VIII, 129 и 353, 1939.
2. Красина Н. Н. Физиология бактерий, разлагающих муравьиную кислоту с образованием газа. Микробиология, V, 669, 1936.
3. Омелянский В. Л. О водородном брожении целлюлозы. Архив биологических наук, т. 7, 1899.
4. Омелянский В. Ueber die Zersetzung der Ameinesäure durch Mikroben. Ctbl. Bakt. II Abt., 11, 177, 1903.
5. Попов Л. Ueber die Sumpfgasgährung. Arch. Physiol., 10, H. 2—3, 113, 1875.
6. Hoppe-Seyler F. Ueber die Gährung der Cellulose mit Bildung von Methan und Kohlensäure. Z. Phys. Chem., X, 201, 401, 1886.

РЕФЕРАТЫ

Квасников Е. И., Кондо Г. Ф., Аряшкина П. П. **К характеристике болезни вин Средней Азии. Виноделие и виноградарство Средней Азии.** 1948 г. Ташкент, стр. 88—103.

Немаловажное значение для микрофлоры вина играет экология места культивирования винограда, его химические компоненты и условия обработки.

По мнению авторов, всякое механическое перенесение технологии виноделия одного экологического района в другой, отличный от первого, недопустимо.

В работе приводятся примеры, когда в условиях европейского виноделия встречаются болезни, отсутствующие в виноделии Средней Азии, и наоборот.

На основании проведенных исследований выяснилась специфичность заболеваний вин, зависящих от экологических условий Средней Азии.

Если для европейского виноделия типичным заболеванием является цвель вина и отсутствие поражения вин крепостью 14° и выше, то в условиях Средней Азии нередко вино, даже крепостью 22°, подвергается порче, главным образом молочнокислыми бактериями, вызывая заболевание — «мышиной тон».

Изучение главного возбудителя «мышиного тона» показало, что это неспоровая, грамположительная, вариабельная палочка из рода Lactobacillus с трудом выделяющаяся в чистой культуре.

Как было выяснено, тормозящее влияние высоких концентраций спирта эффективно только при высокой активной кислотности (pH = 3,3—3,5), смещение таковой даже до pH = 3,8, приводит к типичному заболеванию вина «мышиным тоном».

Этим самым дается ответ, почему коллекционные крепкие европейские вина в условиях Средней Азии не поражаются «мышиным тоном», так как вина наряду с высокими концентрациями спирта имеют высокую активную кислотность, которая зависит от перерабатываемых сортов винограда.

Авторы считают, что для защиты местных сортов крепких вин от заболевания необходимо достигнуть активной кислотности, препятствующей развитию молочнокислых бактерий.

Одновременно они делают заключение, что в местном виноделии необходимо учитывать взаимосвязь между почвенно-климатическими условиями и активной кислотностью, чтобы предупреждать нерациональные потери в виноделии.

А. Фатеев

Авакян С. А. **Бактериальное побурение абрикоса в Арм. ССР.** Тезисы докладов. II. Академия Наук Азербайджанской ССР, стр. 18—21, 1949, Баку.

Абрикосы, персики, кабачки, айва, груша, арбузы в Армении нередко страдают от бактериального побурения.

При побурении поражаются как наружные, так и внутренние ткани плодов, листьев и других частей растения. Источниками заражения могут быть пораженные плоды, листья, почва, тли.

Исследования автора показали, что возбудитель бактериального побурения по морфологическим и физиологическим признакам близок к Bacillus mesentericus vulgatus Flügge; он очень вирулентен и вызывает большие биохимические изменения в пораженных частях растений.

Автор считает, что в данном случае имеет место переход непатогенного сапрофитного Bac. mesentericus в патогенную форму, происходящий под влиянием длительного воздействия высокой температуры.

А. Фатеев

Went J. C. **Compilation of the investigations on the susceptibility of different elms to Cerastomella ulmi Buisman in the Netherlands.** (Сводка исследований о восприимчивости различных видов вяза к грибу Cerastomella ulmi в Голландии). Phytopath. Z., XI, Heft 2, 1938.

В плане полезащитных лесонасаждений от 20 октября 1948 г. вязу уделено достаточно большое внимание. Как одна из главных пород вяз мелколистный рекомендуется на светлокаштановых комплексных почвах Астраханской, Сталинградской, Ростовской, Грозненской областей и Ставропольского края, на карбонатных черноземах Башкирской АССР, на южных черноземах Саратовской, Куйбышевской и Чкалов-

ской областей, на темнокаштановых почвах Саратовской, Сталинградской и Чкаловской областей. Вяз обыкновенный рекомендуется как сопутствующая порода на карбонатных черноземах Башкирской АССР и южных черноземах Саратовской, Куйбышевской и Чкаловской областей. Нет сомнений в том, что и в планах полезащитных лесонасаждений для Средней Азии, Казахстана и Сибири удельный вес вяза и других ильмовых будет довольно большим. Вопрос о введении в полосы ильмовых не может решаться вне связи с вопросом об устойчивости любого вида, разновидности его к голландской болезни ильмовых, выведшей из строя сотни тысяч деревьев в Западной Европе и широко распространенной на Украине, Северном Кавказе, Саратовской, Ростовской и, возможно, в соседних областях. Вопросом о выявлении и создании форм, устойчивых к этому бичу ильмовых, больше и интенсивнее, чем где-либо, занимались в Голландии. Реферируемая нами статья является кратким изложением этих работ, проводившихся в течение почти 10 лет и представляющих несомненный теоретический и практический интерес.

Работы по выявлению видов, разновидностей и форм вяза, устойчивых к Graphium ulmi, методом искусственного заражения начаты Buisman в 1929 г. и продолжались до 1936 г. После ее смерти работу вел автор реферируемой статьи. Испытывался материал, полученный из питомников, арборетумов и ботанических садов Голландии и стран: США, Франции, Германии, Англии, представленный 80 разновидностями и формами видов: Ulmus foliacea Gilib., U. glabra Huds., U. hollandica Mill., U. laevis Pall., U. minor Mill., U. procera Solisb.

При идентификации всего полученного материала пользовались номенклатурой Render. О размахе этой работы говорят, например, такие цифры. Опыты с искусственным заражением были проведены с 5700 сеянцами U. foliacea, 1400 сеянцами U. glabra, и 1800 сеянцами U. hollandica.

Семена и сеянцы U. foliacea были получены из Алжира, Болгарии, Дании, Франции, Германии, Греции, Италии, Румынии, Испании и США. В этом испытании прекрасным развитием и очень высокой резистентностью выделился экземпляр U. foliacea под № 24, носящий название вяз Christine Buisman. Из 1400 сеянцев U. glabra выделены два сеянца как более резистентные типы, из U. hollandica Kemmer выделен один экземпляр как более устойчивый. Продолжаются испытания ряда номеров U. foliacea из Испании, характеризующихся высокой устойчивостью к Graphium ulmi и хорошим ростом. Испытывался и ряд гибридов, полученных в результате скрещивания форм устойчивых и форм поражаемых, но обладающих рядом хозяйственно ценных признаков. Суммируя результаты испытания европейских видов и разновидностей, автор статьи считает, что наилучшие результаты могут быть получены при испытании не видов и разновидностей, а отдельных индивидуумов в пределах видов или разновидностей.

Из азиатских видов испытывались около 15 видов, полученных из ботанических садов и от фирм Европы и США. Относительно устойчивыми оказались карагач, идентичный с U. pumila, arborea Litvin, U. laciniata ninkoensis Rend., U. macrocarpa Hance, U. Wilsoniana Echneid. Большую устойчивость проявил U. parviflora Jacq. и примыкающие к нему виды.

Наиболее устойчивыми оказались U. pumila L., U. pinnato-ramosa Henry, но от разведения их в Голландии пришлось отказаться, так как эти виды сильно поражаются Nectria cinnabarina. Испытания с гибридами U. pumila и U. hollandica, U. pumila и U. montana продолжаются.

Испытанные 8 американских видов оказались сильно восприимчивыми. U. parviflora и близкие к нему виды U. Schrasawana, U. Sieboldii и U. Sieboldii coreana очень устойчивы к Graphium Ulmi, но, по мнению автора, могут быть рекомендованы только для парков.

Мы не касаемся в нашем кратком реферате вопросов методики, влияния возбудителя голландской болезни на древесину, интенсивности распространения мицелия гриба в сосудах устойчивых и сильно поражаемых форм, вопросов, изучавшихся Buisman и Went в процессе их научно-исследовательской работы, поскольку эти вопросы могут интересовать только узкий круг специалистов. Важно подчеркнуть следующее. Эти работы показали, что наши азиатские виды вяза на фоне европейских и американских видов резко выделяются своей устойчивостью к Graphium ulmi и представляют прекрасный материал для селекции и гибридизации в целях получения форм, не поражающихся голландской болезнью и обладающих рядом хозяйственно ценных признаков. Из реферируемой работы надо сделать и другой вывод. Разновидности вяза, рекомендуемые для полезащитных лесонасаждений, должны обладать устойчивостью и к видам Nectria, которые, например, в Ростовской области вызывают массовое усыхание ильмовых.

И. Бейлин

Magni G. **Biological significance of the pseudomycellum in asporogenous yeasts. 1. Reciprocical inhibition of parallel colonies.** (Биологическое значение псевдомицелия у аспорогенных дрожжей. 1. Взаимное подавление параллельных колоний). Mycopathologia, v. IV, pp. 213—219, 1948.

Способность аспорогенных дрожжей образовывать мицелий имеет значение при классификации этих организмов. Вид Candida (небродящий) образует мицелий на

среде Langeron (20 г мякоти картофеля, 20 г мякоти моркови, 1000 см³ воды, 2% агара). Однако при высеве этих дрожжей параллельными рядами, с расстоянием между ними от 8 до 20 мм было обнаружено, что на внутренней стороне между колониями мицелий не развивался. Повышая расстояние между параллельными колониями, можно было получить образование мицелия и на внутренней стороне, практически такое же, как на внешней. Объясняли это явление образованием в процессе роста колоний веществ, диффундирующих в среду и подавляющих рост мицелия. Автор показал, что в опытах, где капля питательной среды добавлялась между параллельными колониями, образование мицелия происходило равномерно на внутренней и на внешней сторонах колоний. Таким образом, отсутствие мицелия на внутренних сторонах параллельных колоний должно быть объяснено не присутствием подавляющих веществ, а недостатком питательных веществ в среде. Автор полагает, что мицелий появляется в тех случаях, когда среда становится относительно бедной питательными веществами, и что с помощью мицелия колонии могут легче и полнее использовать те участки среды, где концентрация питательных веществ более высокая.

Л. Осницкая

Bonner J. **A study of the temperature and humidity requirements of Aspergillus niger.** (Изучение оптимальных условий температуры и влажности для Aspergillus niger). Mycologia, v. XL, pp. 728—739, 1948.

Для получения посевного материала Aspergillus niger выращивался в чашке Петри на среде: 30 г декстрозы, 30 г $NaNO_3$, 1,0 г K_2HPO_4, 0,25 г $MgSO_4$, 0,25 г KCl, 15 г агара, 1000 см³ дестиллированной воды (pH равно 6,8) в течение 7—14 дней при комнатной температуре. Из чашки производился посев на целлофановые пластинки (1 × 1 см), предварительно выдержанные в 5% солодовом экстракте в течение 10 минут. Засеянные пластинки укреплялись в закрытых каучуковыми пробками сосудах, содержащих разные концентрации раствора $CaCl_2$. Концентрациям $CaCl_2$ соответствовали определенные влажности. Сосуды выдерживались при различных температурах. Наблюдение за прорастанием производилось с помощью микроскопирования окрашенных препаратов из этих пластинок. Временем прорастания считали время, необходимое для прорастания в данных условиях 10 спор. Время прорастания определялось при 10; 20; 30; 40; 45 и 50° и относительной влажности 100; 93; 85; 78 и 70%. Оптимальными условиями оказались: относительная влажность около 93% при температуре около 40%; при 100% влажности оптимальная температура равна 30°. Оптимальная температура меняется для различных влажностей. Установлено влияние разных условий влажности и температуры на морфологию гриба, например, при 45% и 100—93% влажности отмечалось сильное разбухание спор.

Л. Осницкая

Reiner J. **The inhibition of enzyme formation and nitrogen assimilation by arsenate.** (Подавление образования энзимов и ассимиляции азота арсенатом). Arch. Biochem., v. **19**, pp. 218—229, 1948.

Известно, что азиды подавляют образование так называемых адаптивных энзимов дрожжами. Действие арсенатов на образование и устойчивость адаптивных энзимов и ассимиляцию азота культурами Saccharomyces cerevisiae и Saccharomyces carlsbergensis изучалось автором статьи в сравнении с действием азидов.

Концентрация арсената ($Na_2HASO_4 \cdot 7H_2O$) варьировалась от 2×10^{-4} до 10^{-2} М. Определение выделенной углекислоты и потребленного кислорода проводилось по Варбургу. Опытами показано, что арсенаты, подобно азидам, подавляют образование энзимов, нормально образующихся при культивировании дрожжей на галактозе. В то время как азиды стабилизируют энзимы, арсенаты ускоряют их разрушение. Подавляющее действие арсенатов не проявляется в присутствии неорганических фосфатов (KH_2PO_4 до 100 γ) и аденозинтрифосфата ($1{,}4 \cdot 10^{-2}$ М).

В присутствии арсенатов дрожжи теряют способность ассимилировать аммиачный азот и выделяют в среду значительное количество фосфатов.

Л. Осницкая

Gerretsen F. **The influence of microorganisms on the phosphate intake by the plant.** (Влияние микроорганизмов на потребление фосфатов растением). Plant and Soil, v. **1**, pp. 51—82, 1948.

Механизм усвоения нерастворимых фосфатов растением еще недостаточно выяснен, хотя принято считать, что углекислый газ, выделяемый корнями растений, переводит нерастворимые фосфаты в растворимые. Автор показал, что на потребление фосфатов растением оказывает сильное влияние микрофлора, обитающая в корневой системе. Опыты проводились с овсом, рожью, подсолнечником, репой и горчицей. Взвешенные семена (5—12 штук) растений выращивались в горшках с почвой или кварцевым песком в стерильных и нестерильных условиях. Добавлялись следующие фосфаты: $Ca_3(PO_4)_2$, Ca_2HPO_4, $Fe_3(PO_4)_2$, костяная мука и ряд фосфатных препаратов. По окончании опыта определялся сухой вес растений и содержание в них фосфатов (осаждением молибденовокислым аммонием). Оказалось, что в тех опытах, где не было

исключено влияние микроорганизмов, вес растений увеличивался (в некоторых опытах до 188%) и возрастало содержание в них фосфатов (до 324%). Из ризосферы были выделены чистые культуры грибов и бактерий. При внесении чистых культур в стерильные почвы было получено увеличение потребления фосфатов на 16—54% и увеличение веса растения. Таким образом, микроорганизмы оказывают благоприятное действие на усвоение растением трудно растворимых фосфатов.

Л. Осницкая

Foster J. W. and Davis J. B. **Anaerobic formation of fumaric acid by the mold Rhizopus nigricans.** (Анаэробное образование фумаровой кислоты плесневым грибом Rhizopus nigricans). J. Bact., v. 56, pp. 329—338, 1948.

Обычно допускают, что фумаровая кислота образуется из сахара путем сбраживания его по типу спиртового брожения и дальнейшего окислительного синтеза 4-углеродных соединений из спирта. Процесс идет в аэробных условиях.

Авторы заметили, что штамм Rh. nigricans, очень активно образующий фумаровую кислоту,—до 55% от сброженного сахара, слабо использует спирт. При определении баланса брожения, проведенного в анаэробных условиях с мелом, найдено, что продуктов образовалось больше, чем их могло образоваться из сброженного сахара. Авторы предположили, что фумаровая кислота в анаэробных условиях образуется в результате ассимиляции CO_2. Последняя присоединяется к пировиноградной кислоте с образованием щавелевоуксусной, которая далее превращается в фумаровую. Этот процесс осуществляет только зрелая пленка. Оптимум pH = 3—4, тогда как оптимум образования фумаровой кислоты в аэробных условиях лежит в нейтральном пункте. Таким образом, есть два пути образования фумаровой кислоты: $C_3 + C$ в анаэробных условиях и $C_2 + C_2$ в аэробных. Возможно, что в аэробных условиях оба процесса идут параллельно.

И. Работнова

Delwich E. A. **Mechanism of propionic acid formation by Propionibacterium pentosaceum.** (Механизм образования пропионовой кислоты Propionibacterium pentosaceum). J. Bact., v. 56, pp. 811—820, 1948.

Обычно считают, что пропионовая кислота у пропионовых бактерий образуется из пировиноградной. Автором показано, что пропионовая кислота может образовываться и путем декарбоксилирования янтарной. Этот процесс у отмытых суспензий идет лишь несколько более медленно, чем сбраживание пировиноградной кислоты. Фермент — декарбоксилаза янтарной кислоты — наиболее активен у культур в возрасте 36—38 часов. При высушивании клеток он разрушается. Оптимальное pH равно 5,1—5,2.

И. Работнова

Henderson L. M., Brickson W. L. and Snell E. E. **A micromethod for the microbiological determination of amino acids.** (Микрометод микробиологического определения аминокислот). J. Biol. Chem., v. 172, No. 1, p. 31—38, 1948.

В основу своего метода, с помощью которого возможно определение по крайней мере 14 аминокислот в 10—20 мг белка среднего состава, авторы положили работу Henderson a. Snell (J. Biol. Chem., 172, 15, 1948). Изменения сводятся лишь к десятикратному умечьшению анализируемого объема (0,2 мл вместо 2,0 мл) и соответствующему приспособлению аппаратуры. Рост тест-организмов (Lactobacillus arabinosus 17—5, Streptococcus faecalis R., Leuconostoc mesenteroides P — 60 и Lactobacillus Delbrückii) в столь малом объеме протекает удовлетворительно.

Определение ведется в следующем порядке:

Пробирки 10 × 75 мм заполняются испытуемыми или стандартными растворами до уровня 0, 0,02, 0,04, 0,06, 0,08 и 0,1 мл, доводятся водой до 0,1 мл, закрываются и автоклавируются в течение 10 минут при 0,7 атм. В каждую пробирку вводят асептически по 0,1 мл инокулированной автоклавированной основной среды двойной концентрации и инкубируют 60—72 часа в накрытой (во избежание испарения содержимого пробирок) бане. Молочная кислота титруется электрометрически прямо в пробирках 0,04*N* раствором NaOH. Расчет производится обычным способом.

Авторы подробно описывают устройство аппаратуры, позволяющей одному человеку титровать две пробы в минуту.

Точность метода ± 10%.

Т. Г. Борисова и Е. Д. Грищечко

КРИТИКА и БИБЛИОГРАФИЯ

А. Ф. Войткевич. Микробиология молока и молочных продуктов. Пищепромиздат. Москва, 1947 г. 2 дополн. изд., стр. 313 + 6 огл.

Курс проф. А. Ф. Войткевича «Микробиология молока и молочных продуктов» вышел в 1948 г. 2-м изданием. В последнем издании внесен ряд существенных примечаний и дополнений. Общий объем 313 страниц, 6 страниц занятых списком литературы и оглавлением.

Книга разделена на 3 части: 1 — общая микробиология, 2 — микробиология молока, 3 — микробиология молочных продуктов. Книга является единственным в СССР руководством по молочной микробиологии для студентов сельскохозяйственных вузов.

Первая часть книги составлена очень сжато и содержит необходимые сведения из общей микробиологии.

Вторая и третья части дают полную картину современного состояния молочной микробиологии.

Вся специальная часть книги построена на основе опыта научных учреждений и молочных промышленных предприятий СССР. Вместе с тем автор умело использовал и все мировые научные достижения по микробиологии молока и молочных продуктов правильными сочетаниями с данными отечественной науки.

На протяжении всего курса от момента содержания животных в стойле, получения молока, его хранения, транспортировки, первичной обработки на молочных заводах и превращения в различные молочные продукты, автор приводит читателя к пониманию тех процессов, которые происходят в молоке на любом этапе его обработки. Это делает курс особенно ценным. Книга написана хорошим языком и является прекрасным учебником.

Единственным недостатком книги является ряд опечаток, допущенных по вине издательства.

К. Рудаков

Цион Р. А. Определитель микробов. ОГИЗ — Сельхозгиз, стр. 1—486. Москва, 1948.

В 1948 г. вышел из печати «Определитель микробов», написанный проф. Р. А.Ционом. Подобного рода работы на русском языке не издавались. Непрерывно же растущие кадры специалистов остро нуждаются в справочной литературе. Таким образом, целесообразность издания определителя микробов очевидна.

Сведения, приводимые в справочной литературе, пожалуй, как в никакой другой, должны быть исключительно точны и конкретны. Ведь определителем (этим и другими) будут пользоваться практики, не имеющие подчас никакой другой литературы. На основании проведенного определения ставятся потом диагнозы, зачастую имеющие далеко идущие последствия. Удовлетворяет ли этому требованию рецензируемая книга? К сожалению, нет. Постараемся это показать.

Автор поставил перед собой очень широкие задачи. Его определитель «охватывает 1770 названий бактерий, дрожжей и плесневых грибов. Он предназначается для работников лабораторий и научно-исследовательских учреждений в области ветеринарии, медицины, агрономии и промышленности...»

В указанные 1770 названий входят организмы, имеющие самое различное значение в сельском хозяйстве и медицине. Тут имеются и представители почвенной микрофлоры и патогенные для животных и растений бактерии и грибы, организмы, развивающиеся на пищевых продуктах, и многие другие. Следовательно, «Определителем» будут пользоваться представители почти всех сельскохозяйственных дисциплин. Мы не будем давать оценку этой книги в целом. Являясь фитопатологами, мы не берем на себя смелость судить о качестве материалов по ветеринарной, пищевой, почвенной микробиологии. Но мы совершенно определенно можем заявить, что почти все, что написано про фитопатогенные микроорганизмы, содержит совершенно недопустимые ошибки[1]. Мы не считаем возможным пройти мимо этих ошибок, ибо нам

[1] Сказанное здесь и ниже в очень многих случаях относится и к другим, описанным в «Определителе» микроорганизмам. Эльберт и Черномордик отмечают целый ряд ошибок при описании микроорганизмов, патогенных для человека и животных. Они считают, что Цион «прошел мимо исследований советских авторов и пользовался устаревшими данными». Эти авторы правильно указывают, что работы по составлению полного определителя микроорганизмов не под силу одному лицу, а должны быть выполнены коллективом специалистов (Советская книга № 3, 1949, стр. 42—45).

дороги интересы науки, ибо отчетливо себе представляем, что наука должна помогать практике, в числе прочего также составлением справочников. Приводимые же в «Определителе» сведения о фитопатогенных грибах и бактериях совершенно дезориентируют читателя и не дают ему возможности не только что-либо определить, но заставляют усомниться в тех знаниях, которые он получил, обучаясь в высших учебных заведениях.

Большую часть книги составляют таблицы морфо-биологических свойств бактерий, плесеней и дрожжей (стр. 77—396). Среди микроорганизмов, свойства которых описываются в этих таблицах, много фитопатогенных бактерий. Однако некоторые данные, их характеризующие, подчас настолько неточны или просто неверны, что в лучшем случае не позволяют правильно определить принадлежность изучаемого организма к тому или иному виду.

Прежде всего не указывается почти нигде, патогенен ли тот или иной микроорганизм для растений или является представителем встречающейся на них сапрофитной микрофлоры. Например, на табаке указано 16 видов бактерий и не указано, какие из них патогенны для растений. Однако сюда включены и патогенные виды и сапрофиты, а есть и вообще сомнительные. Например, единственное известное свойство B. Stalactigenes Honing, описанное в «Определителе», это то, что это палочки и выделяются они с табака. Те же сведения имеются и для B. Semutranum Honing. Между тем в разбираемых таблицах есть две графы, где патогенность бактерий могла бы быть указана (графы «Восприимчивость» и «Индивидуальные свойства»). Иногда автор пользуется ими, но, к сожалению, очень редко. Почему, например, среди трех подряд описанных бактерий, патогенных для растений (B. holci, B. holciola, B. hyacinti septicum), у последней указано, что она может заражать растения, а у первых двух нет, хотя это свойство их несомненно. Основным свойством фитопатогенных бактерий все же является их способность вызывать заболевания растений. Часто по своим морфологическим и биохимическим свойствам они схожи с какими-либо сапрофитами или между собой, отличаясь лишь способностью поражать тот или иной вид растения.

Автор совершенно игнорирует приуроченность многих фитопатогенных бактерий поражать только определенный вид растения и не переходить на другие виды. Поэтому часто в графе «Откуда выделяется», для видов, поражающих только один вид или род растения, применяется ничего не говорящий термин: «растения». Какие же растения? Так можно найти почти на любом растении совершенно не свойственные им виды бактерий. Укажем несколько примеров. B. marginatum и B. gladioli специфичны для гладиолусов, а не вообще для растений. B. sorgi поражает только сорго и близкие виды злаков, а не растения вообще. B. necrosis Kal. известен на тау-сагызе и, может быть, на некоторых других сложноцветных, а не вызывает «бактериозы растений». Какие бактериозы и каких растений?

У некоторых видов указывается правильно растение-хозяин, но почему-то добавляется «и другие». Это сбивает с толку малоопытного читателя. Известно, например, что B. mori поражает только тутовое дерево, являясь строго специфичным видом. При чем же здесь «и другие». То же самое для B. hibisci («кенаф и другие»), для B. hederae («плющ и другие»). Для некоторых бактерий место выделения указано еще более неточно, а местами даже неверно. Например, для B. iridicola в качестве места выделения фигурируют «травы», бактерия же эта поражает ирисы. B. dahliae поражает не герань, а георгины. B. tracheifilum выделяется не из «больных овощей» (чем больных?) и вызывает не какую-то неопределенную «болезнь овощей», а является специфичным паразитом тыквенных, вызывающим увядание зеленых растений.

Совершенно фантастические сведения приводятся о B. tumefaciens — возбудителе корневого рака многих растений (главным образом плодовых деревьев). Однако об этой бактерии у проф. Циона сказано: «болезнь овощей». Восприимчивы к ней оказываются «картофель и другие овощи» и местом выделения ее являются пораженные клубни и фрукты. С начала до конца неверно. Эта бактерия вызывает опухоли на подземных и очень редко на надземных (стеблях) частях растений, но никак ни на фруктах и не на овощах, а на картофеле же вообще не найдена. Можно ли хоть какое-либо представление получить о характере паразитирования B. tumefaciens на растениях, пользуясь определителем проф. Циона? Конечно, нет.

Bact. rizogenum Ricka выделяется, по Циону, из корней «яблочных», а B. rosarum из стволов «розовых». Мы уже не говорим о том, что вообще существование последнего микроорганизма сомнительно. Патогенность его не доказана, а из его свойств фигурирует лишь величина бактерий, которая без других признаков не может служить критерием для определения. Что это такое за «яблочные», «розовые»? Семейства растений или новые систематические градации, устанавливаемые проф. Ционом? Вообще и ботанической номенклатуре автор «Определителя разбирается плохо. Вероятно, в качестве семейств растений или, может быть, каких-либо других систематических единиц, фигурируют «яблоковые» (место выделения для B. mali), соевые, фасолевые, для некоторых бактериозов сои и фасоли, свекловичные, ивовые, лимонные, грушевые. Где автор взял все эти наименования? Неужели нельзя было заглянуть в любой определитель растений, которых достаточно на русском языке?

Bact. amylovorum Br., оказывается, вызывает «болезнь фруктов». Как раз эта бактерия «фрукты» поражает меньше всего. Она вызывает поражение ветвей, ожог

цветов и молодых побегов. Откуда автор взял, что B. amylovorum образует розовый пигмент. На чем? При росте в культуре?

B. aleuritibis, по Циону, встречается на тутовом дереве, а не является паразитом тунга. Какое сходство тунга и тутовника? Разве что оба эти дерева пишутся с одной и той же буквы.

На рисе описано два вида бактерий под одним и тем же названием (стр. 214). При этом сведения о патогенности этих видов бактерий неверны. Как раз тот, про который сказано «болезнь риса» (B. oryzae) Hori, никакой болезни не вызывает. Причиной заболевания риса является вторая бактерия B. oryzae Nacata. B. sepedonicum Spleck. вызывает не гниль картофеля, а поражение сосудистого кольца («кольцевая гниль») и увядание растений.

Перечисление неточностей, ошибок, искажений действительного положения вещей можно было бы продолжать еще очень долго. Но не достаточно ли того, что уже сказано, чтобы признать, что фитопатогенные бактерии по этому определителю определять нельзя?

Следует отметить совершенно некритический подход автора к составу помещаемых в «Определителе» микроорганизмов. Наличие там многих из них нельзя объяснить не чем иным, как желанием расширить объем книги. Есть много видов, у которых фигурирует только одно название (без описания свойств) или один-два признака. Например, под №№ 480 и 687 значатся бактерии (B. konainensis Uyeda, B. persicae Smith), у которых не указано ни одного свойства, кроме того, что первая выделена из растений, а вторая — из персика. Зачем их было помещать в «Определитель»? Ведь под такие, с позволения сказать, свойства, можно подогнать любую бактерию. Или среди нескольких видов B. betae есть один (B. betae Chester), про который сказано только одно: «палочка». Сколько таких «палочек» можно найти на свекле и других корнеплодах? Можно ли угадать, что кем-либо выделенная из свеклы бактерия принадлежит именно к этому виду на основании указанных «морфо-биологических свойств»?.

Или что стоит следующее место выделения B. cursor Burchard (№ 277). Таковым, оказывается, является «внешний мир». Что имеет в виду автор под этим всеобъемлющим термином? Земля, вода, воздух,— все это у него фигурирует отдельно. Что же такое внешний мир? В «Определителе» много лишнего балласта. Сведения о фитопатогенных бактериях недоброкачественны.

Сами таблицы составлены так, что определять по ним микробов трудно. В дифференцирующих таблицах А лишь перечисляется ряд видов. Их назначение очень туманно. В таблице морфо-биологических свойств много видов, которых нет в дифференцирующих таблицах. Как же добраться до их определения?

Таблицы морфо-биологических и культуральных свойств плесневых грибов (стр. 398—439) содержат в себе сведения о 271 грибе, 20% из которых (пятую часть) составляют организмы, в той или иной степени патогенные для растений. Прежде всего обращает на себя внимание совершенно произвольный выбор включенных в таблицы фитопатогенных грибов. Почему-то в группу плесневых грибов включены четыре вида головневых и два ржавчинника, причем последним дано название, которое уже много лет не применяется (Aecidium rubi — idae, Aecidium grossularia). Нет очень многих важных грибов — возбудителей болезней растений и, наоборот, включены виды, хозяйственное значение которых очень небольшое. Например, Ascochyta nicotiana, Cercospora melonis, Phytophtora faberi. Но с этим все же можно было бы примириться. Однако сведения о включенных в таблицу видах настолько не соответствуют действительности, что диву даешься, откуда взял их автор. Ржавчинные грибы на крыжовнике и малине обозначаются как плесень, хотя они никакого сходства с плесенью не имеют. К плесеням относится также Plasmodiphora brassicae (возбудитель килы капусты), который вообще мицелия не имеет, а относится к порядку слизевиков. К плесеням отнесены и головневые грибы Ustilago avenae, U. hordei, U. maydis, хотя они также ничего общего с этой группой не имеют. Сюда же попал и Polyporus vaporarius (повидимому, Poria vaporaria?), охарактеризованный вообще замечательно: «Плесневый гриб. Мицелий». А разве у других плесеней мицелия нет? Попробуйте определить по этим признакам, что этот гриб относится к роду Polyporus. Автор, повидимому, совершенно не представляет, что принято обозначать под словом плесень.

О некоторых грибах сообщаются совершенно потрясающие по безграмотности сведения. Например, о головневых грибах Ustilago avenae U. hordei написано, что они вызывают ржавчину, а не головню, в первом случае на метелках овса, а во втором на колосьях ячменя. Откуда взял это проф. Цион? Любая популярная брошюра по головневым грибам (а таких есть множество) или учебник по фитопатологии помогли бы ему избежать этой ошибки. Конечно, если бы он внимательно прочел эти книги [2].

Verticillium albo-atrum — возбудитель увядания ряда растений, оказывается, выделяется из сыра и овощей. Откуда это взято? Его «индивидуальные» свойства

[2] Для начала рекомендуем книгу Н. А. Наумова «Болезни сельскохозяйственных растений», 1940.

обойдены молчанием, а сведения о его морфологии содержат следующие «замечательные» слова: «Плесневый грибок. Спорангии причудливые. Плодоносцы. Конидии». Во-первых, у рода Verticillium никаких спорангиев нет, а тем более «причудливых». Во-вторых, к сведению автора, для несовершенных грибов существует термин «конидиеносцы», но не «плодоносцы». В-третьих, что за неопределенное указание «конидии»? Какие конидии? Бесцветные или окрашенные? Одноклетные или с перегородками? Все это необходимые для определения сведения. А то, что приводится у проф. Циона, конечно, не дает возможности хотя бы приблизительно подойти к определению данного вида.

Следует вообще отметить, что сведения, помещенные в графе «морфология», настолько неопределенны, что пользоваться ими для определения нельзя. Что стоит, например, такой «морфологический» признак, как «грибок». А так обозначаются морфологические признаки у очень многих организмов, включенных в разбираемые таблицы. В графе «морфология» у Alternaria brassicae указывается «грибок», у Ascochyta nicotianae тоже «грибок», почти все виды рода Fusarium тоже определяются одним термином «грибок», так же как виды рода Trichophyton (это уже явное поле деятельности для ветеринарных наук!). О неопределенности понятия «грибок» говорить не приходится. Кстати, вообще в этой таблице должны фигурировать только «грибки» (см. название таблицы). Ясно, что по такому «морфологическому» признаку узнать видовую принадлежность определяемого микроорганизма нельзя. Да и само слово «грибок» вовсе не обозначает «морфологию».

Очень мало скажет читателю термин «гифомицет», ибо гифомицетов великое множество и каждый род и вид имеет определенные признаки. Под № 1663 значится Pericularia oryzae. Единственный признак этого гриба, приводимый в «Определителе», это «гифомицет». Больше ни одного слова про этот гриб не сказано. Не указано даже, откуда он выделяется и какие растения к нему восприимчивы. Если даже читатель все же догадается, что это — паразит риса по видовому названию гриба (oryzae), то на рисе описано 11 гифомицетов [3], и человек, нашедший какой-либо гифомицет на рисе, пользуясь «Определителем» проф. Циона, не сможет ни определить, имеет ли он дело с Pericularia oryzae, ни узнать более подробные сведения об этом важнейшем паразите риса.

Автор широко пользуется термином «плесень». Цену этого термина, в понимании проф. Циона, мы уже показали. Но даже там, где действительно описываются плесневые грибы, голое применение термина «плесень» не дает возможности разделить виды. А такое положение имеет место, например, при описании видов рода Penicillium. У 11 видов морфология определена одним словом «плесень».

Но это далеко не все. Alternaria brassicae, паразит капусты, оказывается, вызывает заболевание ячменя, Alternaria tenuis, обычно встречающаяся на семенах разных растений, по Циону, вызывает гниль плодов томатов. Sclerotinia Libertiana, как оказывается, является возбудителем гоммоза цитрусовых. В графе «физиология и рост» о возбудителе парши яблони (№ 1562), видовое название которого, кстати, искажено (Fusicladiothrix вместо Fusicladium), указывается: «черные пятна». Где образуются черные пятна? На растениях или при росте гриба в культуре? Заметим, что на растениях здесь пятна вовсе не черные, а темнозеленые. Подобные примеры можно было бы и продолжать, но, кажется, и сказанного достаточно.

Можно считать, что по разбираемым таблицам «Определителя» никакого определения грибов производить нельзя. Да и вообще неизвестно, как подходить к определению, хотя бы видов, помещенных в этих таблицах, пользуясь тем, что написано в книге проф. Циона. Как пишет автор, в основу определения плесневых грибов должны быть положены «фруктификация и морфология». Где же эта «фруктификация и морфология?» Цену ее мы показали на ряде примеров.

После всего сказанного позволительно спросить проф. Циона. Неужели в советской литературе нет книг, в которых имелись бы грамотные сведения о фитопатогенных микроорганизмах? Неужели у нас нет специалистов-фитопатологов, микологов, ботаников, которые могли бы дать вполне квалифицированную консультацию проф. Циону при составлении им его книги? Конечно, есть!

Будучи доктором ветеринарных наук, специалистом по микроорганизмам, патогенным для животных, автор, естественно, мог и не быть знакомым с организмами, патогенными для растений. Но тогда и не следует браться за то, что мало знакомо, а уж если взялся, то следует предварительно хорошенько ознакомиться с тем, о чем собираешься писать, да еще писать не что иное, как определитель. Иначе получается бессмысленная погоня за количеством включаемых в определитель видов (1770!), погоня за листажом (книга содержит 61 печатный лист!) за счет явного ущерба качества помещаемых в книге сведений.

Позволительно спросить и Сельхозгиз (редактор И. И. Леонов), можно ли выпускать в свет такие ответственные книги, как определители (да и всякие другие), без консультации с соответствующими специалистами? Книга проф. Циона содержит

---

[3] А. А. Ячевский. Справочник фитопатологических наблюдений, стр. 141—142, Л., 1930.

сведения из разных отраслей микробиологии. Она и должна быть просмотрена соответствующими специалистами.

В таком виде определитель не позволяет вести правильное определение патогенных для растений микроорганизмов. Он дезориентирует (в этой части) работников сельского хозяйства, являясь не только бесполезной, но и вредной книгой.

В журнале «Природа» (№ 4, 1949, стр. 81—82) появилась рецензия на книгу Р. А. Циона, написанная проф. А. И. Метелкиным. Последний считает необходимым отметить, что «рассмотренное здесь руководство следует признать лучшим (?) из существующих определителей микробов по его содержанию...»

Каково это содержание, мы показали выше. Вероятно, проф. Метелкин не вник в его существо. Главным достоинством книги Р. А. Циона рецензент считает то обстоятельство, что она «дает возможность определять не только бактерии, но и дрожжи, плесени и близкие к ним микроскопические грибы». Спрашивается: читал ли проф. Метелкин все то, что написал проф. Цион? Если не читал, то не следовало бы писать рецензию, а если читал, то ему можно предъявить то же обвинение, что и автору «Определителя»,— полное отсутствие сведений о фитопатогенных микроорганизмах и грибах вообще. Или, может быть, его поразила цифра — 1770 видов (эта цифра указана в предисловии!), и он решил, что книгу можно применять в самых разнообразных лабораториях. К сведению и автора и рецензента: качество определителя связано не только с числом включенных туда видов, а также (и в очень большой степени) и с качеством помещенных там материалов.

Вероятно, рецензент не пытался определять микробы по определителю Р. А. Циона. Иначе он вряд ли написал бы второй и третий пункты «достоинств» этой книги.

Рецензия проф. Метелкина очень обща и не дает объективной оценки книги. Детальный же анализ последней позволяет считать, что она не может рекомендоваться «для широкого распространения по нашим микробиологическим лабораториям». Во многих из них этот определитель принесет только вред.

М. Горленко

ХРОНИКА

Институт эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалея АМН СССР обращается с просьбой ко всем лицам, имеющим письма Николая Федоровича Гамалея и какие-либо материалы (фото и пр.), касающиеся его жизни и деятельности, предоставить все эти документы или копии с них для организованного в Институте музея Н. Ф. Гамалея.

Эти материалы необходимы также для ведущейся в Институте, согласно постановлению Правительства, работы по подготовке к изданию сочинений и переписки основоположника советской медицинской микробиологии Н. Ф. Гамалея.

Материалы просьба направлять по адресу: Москва, «центр», Фуркасовский пер. 3, Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалея АМН СССР, Кабинет истории микробиологии.

О РАБОТЕ СЕССИИ УЧЕНОГО СОВЕТА ВСЕСОЮЗНОГО НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ИНСТИТУТА ГИДРОЛИЗНОЙ И СУЛЬФИТНО-СПИРТОВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

21—23 апреля 1949 г. в Москве была проведена сессия Ученого совета Всесоюзного научно-исследовательского института гидролизной и сульфитно-спиртовой промышленности, посвященная вопросам производства пищевых и кормовых дрожжей из непищевого сырья.

Партия и правительство, придавая большое значение гидролизной промышленности, поставили перед гидролизниками ответственную задачу — обеспечить подъем промышленности и резко увеличить выпуск продукции — спирта, белковых дрожжей, фурфурола и т. д.

Научно-исследовательские работы Института гидролизной промышленности направлены на выполнение этой задачи. Значение производства белковых дрожжей усиливается в связи с развитием в стране животноводства, требующего полноценных концентрированных кормов.

Работы дрожжевой лаборатории на сессии были представлены докладами, охватывающими различные вопросы, связанные с производством пентозных дрожжей из барды гидролизных и сульфитно-спиртовых заводов.

В вводном докладе на тему «Пути развития производства дрожжей в гидролизной промышленности» П. Н. Фишер отметил, что производство дрожжей из непищевого сырья имеет свои специфические особенности, благодаря которым оно резко отличается от производства пекарских дрожжей. Эти особенности заключаются в составе сырья, способе выращивания и физиологических свойствах дрожжей. В связи с расширяющейся потребностью в кормовых дрожжах при комплексной переработке древесины, однолетних сельскохозяйственных растений и сульфитных щелоков на дрожжи должны быть использованы: а) барда гидролизных и сульфитно-спиртовых заводов, б) форгидролизаты, получаемые при переработке сельскохозяйственных растительных отходов и при производстве облагороженной целлюлозы, в) водный гидролизат, получаемый при производстве ксилозы из хлопковой шелухи, початков кукурузы и подсолнечной лузги.

Докладчиком отмечены основные моменты в развитии научно-исследовательских работ, связанных с производством белковых дрожжей: подготовка древесных сред и их очистка от веществ, вредно влияющих на размножение дрожжей, подбор новых наиболее эффективных штаммов белковых и жировых дрожжей, способных размножаться в средах непищевого сырья, разработка непрерывных методов выращивания дрожжей, и указано направление дальнейших работ, способствующих повышению производительности дрожжевых цехов и рентабельности производства белковых дрожжей.

Работы лаборатории, связанные с вопросами подготовки из непищевого сырья питательных сред для дрожжей, были представлены докладами Г. К. Шилина и Н. Г. Мендлиной.

В докладе Г. К. Шилина «Подготовка гидролизата и сульфитного щелока для комплексной переработки их на спирт и дрожжи» указывается, что в древесных гидролизатах содержатся органические вещества, которые нарушают нормальную жизнедеятельность дрожжей. Эти вещества тормозят процессы сбраживания сахаров гидролизата на спирт, а в условиях выращивания пентозных дрожжей выделяются из жидкости в виде осадков темнокоричневого цвета, которые, примешиваясь к дрожжам, снижают их качество. В работе доказано, что эти коллоидные вещества являются поверхностно-активными, способными к образованию твердого адсорбционного слоя в пене. Образование стойкой пены в сильной степени затрудняет технологический процесс переработки гидролизата на спирт и дрожжи.

В докладе Г. К. Шилина, а также в докладе Н. Г. Мендлиной «Исследования в области очистки гидролизной барды перед выращиванием дрожжей» экспериментально доказано, что существующие ранее методы очистки гидролизата и барды не

приводят к положительным результатам. Показано, что «головная» очистка гидролизата может быть осуществлена лишь при правильном сочетании основных элементов очистки: нейтрализации, аэрирования, добавления реагентов, способствующих очистке, в частности, солей железа. В очищенных субстратах динамика роста, выход и качество дрожжей повышаются.

Для гидролизно-дрожжевого производства имеет большое значение, с какой культурой дрожжей работает цех, в какой степени эти дрожжи используют органические вещества барды для своего развития и насколько они стойки при размножении в нестерильных условиях на заводах. Этому вопросу был посвящен доклад А. П. Крючковой «Изучение производственных штаммов пентозных дрожжей». Автором показано, что путем подбора различных видов пентозных дрожжей можно изменить степень утилизации отдельных компонентов барды и повысить выход дрожжевой массы. Отмечено, что подбор новых штаммов необходимо проводить среди производственных дрожжей, хорошо приспособленных к древесным средам и более стойких в производственных условиях. При изучении видового состава дрожжей на трех заводах установлено, что дрожжи Monilia murmanica в производственных условиях, существующих на заводах Главгидролизпрома, плохо размножаются и вытесняются другими видами пентозных дрожжей. Из производственных инокуляторов выделены различные виды и штаммы пентозных дрожжей, имеющие свои оптимальные условия размножения. Подобраны дрожжи, способные размножаться в барде без нейтрализации, и дрожжи, хорошо размножающиеся при 38—40°.

Отдельные штаммы Torula utilis, Candida tropicalis и других видов дрожжей, размножающиеся на различных заводах в разных условиях, под действием факторов внешней среды приобрели особые свойства и отличаются по активности размножения в пентозных средах, по выходу дрожжевой массы и другими признаками.

Подбор штаммов сопровождался изучением их способности усваивать различные органические вещества барды — ксилозу, арабинозу, галактозу, рамнозу, а также уксусную, левулиновую, уроновые кислоты.

Опытами по изучению химического состава барды и бражки показана усвояемость тех или иных компонентов барды различными пентозными дрожжами. Доказано, что в силу специфических особенностей древесных сред и различных способов подготовки барды для разных заводов или группы однотипных заводов необходимо подобрать свои наиболее эффективные штаммы. Применение новых штаммов пентозных дрожжей на заводах дало возможность повысить выход продукции дрожжевых цехов. В работе отражена тесная взаимосвязь организма и среды.

Весьма актуальной проблемой для гидролизной промышленности является получение из непищевого сырья дрожжевых грибков, содержащих в своих клетках большое количество жира. В докладе П. Н. Фишера «Производство жировых дрожжей из непищевого сырья» было отмечено, что проблема биологического синтеза жира в промышленном масштабе еще не решена, хотя грибки, способные накапливать большое количество жира в клетках, давно известны, и актуальность проблемы получения жира путем биологического синтеза несомненна.

Целью работы является подбор микроорганизмов, способных накапливать жир при глубинном выращивании на древесных средах. Среди пентозных дрожжей найдены штаммы, способные накапливать до 41% жира. На гидролизной и сульфитной барде при низком содержании сахаров (0,4—0,6%) не удалось получить дрожжи с большим содержанием жира. На сульфитном щелоке с содержанием сахаров около 3% получены дрожжи с 18—20% жира. Указаны особенности способа выращивания жировых дрожжей, благоприятствующие жиронакоплению.

В результате обсуждения признано необходимым продолжить разработку технологического режима получения жировых дрожжей на средах из непищевого сырья с использованием наряду с другими средами форгидролизатов хлопковой шелухи и других растительных отходов, содержащих 5—7% редуцирующих веществ.

В задачи дрожжевой лаборатории входила разработка методов контроля производства дрожжей. Этому вопросу был посвящен доклад Я. А. Гельфмана «Технохимический контроль дрожжевого производства».

Автором была пересмотрена и уточнена схема контроля и учета периодического процесса подготовки среды и выращивания дрожжей. Кроме того, была предложена для обсуждения схема контроля, разработанная применительно к новой технологической схеме непрерывного процесса выращивания дрожжей и очистки среды, принятой Главгидролизпромом на основе работ дрожжевой лаборатории. В схему контроля вошли новые методы анализов, разработанные во Всесоюзном научно-исследовательском институте гидролизной и сульфитно-спиртовой промышленности, позволяющие сократить время их выполнения или повысить точность анализа, как, например: эбулиостатический метод определения редуцирующих веществ, определение спирта флотационным и фотоэлектрическим методом, метод определения выхода дрожжей по утилизированному азоту и другие.

В результате обмена мнений по предложенным вниманию членов Ученого совета и представителей научно-исследовательских институтов и заводов докладам направление работ дрожжевой лаборатории признано правильным, отмечено их большое значение для промышленности и теоретический интерес.

А. П. Крючкова

СОДЕРЖАНИЕ

А. А. Имшенецкий. Электрономикроскопическое изучение миксобактерий 393

Н. А. Красильников. О видовом составе актиномицетов—продуцентов стрептомицина 397

А. Е. Крисс и Е. А. Рукина. Восстановительные и окислительные процессы в сероводородной области Черного моря 402

М. О. Стрешинский. Стимулирующее действие пенициллиума на образование биологически активных веществ культурой Bac. subtilis 416

А. Л. Бычковская. Аэробная регенерация льняной мочильной жидкости в высоком слое 425

Н. В. Орлова. Образование ацетоина и 2, 3-бутиленгликоля культурой Aerobacter aerogenes. 432

А. С. Разумов. Gallionella kljasmiensis (sp. n.) как компонент бактериального планктона 442

Е. Н. Мишустин и О. И. Пушкинская. Микориза древесных растений и ее значение при полезащитных лесонасаждениях (обзор) 447

И. Л. Работнова. Л. Попов—первый исследователь сбраживания клетчатки и муравьиной кислоты 468

Рефераты 470

Критика и библиография 474

Хроника 479

А-09164 Подписано к печати 6.IX 1949 г. Печ. л. $5^1/_2$ +1 вклейка
Уч.-изд. л. 8,9 Тираж 4800 экз. Заказ 2402

2-я типография Издательства Академии Наук СССР. Москва, Шубинский пер., д. 10

Цена 9 руб.

ИМЕЮТСЯ В ПРОДАЖЕ КНИГИ И ЖУРНАЛЫ ПО МИКРОБИОЛОГИИ ИЗДАНИЯ АН СССР

КНИГИ

СУШКИНА Н. Н. Эколого-географическое распространение азотобактера в почвах СССР. 1949 г. 249 стр. Ц. 15 р. 50 коп.

Содержание: Предисловие. Введение. Обзор литературы. Открытие азотобактера и первые годы исследования. Повсеместность распространения азотобактера. Распространение азотобактера в морских и пресных водоемах. Распространение азотобактера в зависимости от реакции почвы и содержания кальция. Распространение азотобактера в зависимости от содержания фосфорной кислоты в почве. Связь между распространением азотобактера, типами почв и почвенными горизонтами. Влияние микроэлементов на распространение азотобактера в почвах. Связь между распространением азотобактера в почвах и растительным покровом. Собственные исследования. Район исследования. Методика. Представители рода азотобактера, встречающиеся в исследованных почвах СССР. Распространение азотобактера в главнейших типах почв. Заключение. Таблица по распространению азотобактера в почвах СССР. Использованная литература.

ТАУСОН В. О., проф. Великие дела маленьких существ. 1948 г. 114 стр. (Научно-популярная серия). Ц. 4 р. 50 к.

ТАУСОН В. О., проф. Наследство микробов. 1947 г. 148 стр. (Научно-популярная серия). Ц. 6 руб.

КРАСИЛЬНИКОВ Н. А. Определитель бактерий. Объем 52 л. Ц. 65 р.

ЖУРНАЛЫ

МИКРОБИОЛОГИЯ

За 1945 г.	Том XIV №№ 4, 5	Цена каждого номера	8 р.
» 1946 г.	» XV №№ 2, 3, 4, 5 и 6	» »	9 р.
» 1947 г.	» XVI №№ 1, 4, 5 и 6	» »	9 р.

ПЕЧАТАЮТСЯ СЛЕДУЮЩИЕ КНИГИ

МЕЙСЕЛЬ М. Н. Функциональная морфология дрожжевых организмов. Объем 14 л. Ц. 11 р. (Ориентировочная).

МИШУСТИН Е. Н. Термофильные микроорганизмы в природе и в практике. Объем 18 л. Ц. 14 р. (Ориентировочная).

КНИГИ И ЖУРНАЛЫ ПРОДАЮТСЯ В МАГАЗИНАХ «АКАДЕМКНИГА»

Москва, ул. Горького, 6; Ленинград, Литейный проспект, 53а;
Свердловск, ул. Белинского, 71-в; Ташкент, ул. К. Маркса, 29;
Киев, Б. Владимирская, 53.

Иногородние заказы высылаются наложенным платежом (без задатка)

С заказами обращаться:

Москва, Б. Черкасский, 2. Контора «Академкнига»;
Ленинград, Литейный проспект, 53-а, Ленинградское отделение «Академкнига»